Die Beeinflussung des Schlüpfverhaltens und der Aktivität von Cercarien von Schistosoma mansoni durch osmotische Faktoren, Kalium- und Magnesiumionen

Gertraud Seitz

Disbui. München
1988

UNIV.
LUDWIG
KIEL.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554801_0080

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene
der Technischen Universität München
(Direktor: Prof. Dr. Kurt Liebermeister)
Arbeit angefertigt unter Leitung von
Prof. Dr. R. Disko

vorgelegt über das
Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. R. Gothe

Die Beeinflussung des Schlüpfverhaltens und der Aktivität von Cercarien von *Schistosoma mansoni* durch osmotische Faktoren, Kalium- und Magnesiumionen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Gertraud Seitz
aus
Hamberg

München 1988

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Prof. Dr. R. Gothe

Korreferent: Prof. Dr. B. Gedek

Tag der Promotion: 26. Februar 1988

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung 1

2. Literaturübersicht 3

2.1. Verbreitung und Epidemiologie 3
2.2. Der Entwicklungszyklus 3
2.3. Die Cercarie 6
2.4. Das Ausschlüpfen von Cercarien 9
2.5. Die Spontanaktivität und die reizphysiologischen Grundlagen dieser Arbeit 11
2.5.1. Die Spontanaktivität von Cercarien 11
2.5.2. Die Reaktion von Cercarien auf Lichtreize 12
2.6. Osmotische Faktoren und anorganische Ionen in der Umwelt der Cercarien 13
2.6.1. Osmoregulation bei Wassertieren 13
2.6.2. Kalium und Magnesium 15
2.7. Problemstellung der eigenen Arbeit 17

3. Eigene Untersuchungen 18

3.1. Material und Methoden 18
3.1.1. Aufrechterhaltung des Infektionszyklus im Laboratorium 18
3.1.1.1. Haltung der Schnecken 18
3.1.1.2. Infektion der Schnecken 18
3.1.1.3. Infektion der Mäuse und Gewinnung der Miracidien 19
3.1.2. Versuchsbedingungen 19
3.1.2.1. Schlüpfversuche 20
3.1.2.2. Aktivitätstests 22
3.1.3. Statistische Methoden 26

3.2. Ergebnisse 29
3.2.1. Schlüpfversuche 29
3.2.2. Aktivitätstests 42
3.2.2.1. Vergleich: Spontanaktivität - Aktivität nach Reiz 42
3.2.2.2. Vergleich der Spontanaktivität in unterschiedlichen Lösungen 44
3.2.2.3. Vergleich der Aktivität von Cercarien nach Dunkelreiz in verschiedenen Ionenlösungen 47
3.2.3. Statistische Prüfung der Kurven 51

4. Diskussion 55

4.1. Schlüpfversuche 55
4.1.1. Methodik 55
4.1.2. Ergebnisse 58
4.2. Aktivitätsuntersuchungen 66
4.2.1. Methodik 66
4.2.2. Ergebnisse 67

5. Zusammenfassung 72

6. Summary 73

7. Literaturverzeichnis 74

1. Einleitung

Schistosomiasis (Bilharziose) ist immer noch eine der großen Krankheiten dieser Erde, etwa 200-300 Millionen Menschen in den Tropengebieten leiden daran (WHO, 1980), 600 Millionen sind davon bedroht, vor allem Kinder und Jugendliche. Die Umstrukturierung traditioneller Lebensformen durch Zivilisation und Technik, der vermehrte Wasser- und Nahrungsmittelbedarf infolge der Überbevölkerung und die daraus resultierende Zerstörung ursprünglicher Ökosysteme gerade in den Ländern der Dritten Welt, hat die Ausbreitung dieser Krankheit in den letzten Jahrzehnten forciert.

Die vereinfachte Weise, mit der die Industriegesellschaft die komplexen Zusammenhänge unserer Umwelt betrachtet, zeigt sich gerade am Beispiel der Bilharziosebekämpfung, bei der bisher der Schwerpunkt auf der chemischen Bekämpfung des Zwischenwirtes Schnecke lag. Beispielsweise wurde von 1969 - 1972 mit deutscher Hilfe in der Oase El Fayoum (16000 qkm, 1.1 Millionen Einwohner) das bisher größte Projekt der Bilharziosebekämpfung durchgeführt. Zweimal jährlich sind 15 Tonnen des Molluskizids BAYLUSCID (1.5 Millionen DM) für 8 Stunden in den einzigen Hauptbewässerungskanal eingeleitet worden. Bis 1974 wurde zwar die Prävalenz von 46.5 % auf unter 10 % gesenkt, jedoch war der Erfolg durch technische und organisatorische Probleme gefährdet (Technau, 1974). Im Jahr 1979 war die Prävalenz in El Fayoum bereits wieder auf Zahlen zwischen 18 und 40 % gestiegen (Disko, 1982). Die hohe Toxizität von Molluskiziden für Fische und andere Wassertiere zieht seinerseits wieder neue ökologische Schäden nach sich.

Nur wenn die Feinheiten des Entwicklungszyklus und die

ökologischen Beziehungen von Schistosomen noch besser verständlich sind, wird eine sinnvollere und effektivere Bekämpfung dieses Parasiten möglich sein, die auch möglichst wenig Umweltschäden nach sich zieht.

2. Literaturübersicht

2.1. Verbreitung und Epidemiologie

Schistosoma haematobium, der Erreger der Urogenitalbilharziose, findet sich in großen Teilen Afrikas, auf Madagaskar, Mauritius, der Arabischen Halbinsel und in Vorderasien. Schistosoma japonicum, ist vor allem in China und auf den Philippinen verbreitet, in Japan tritt es kaum mehr auf. Schistosoma mansoni findet man in weiten Gebieten Afrikas, im Norden Südamerikas und auf einigen karibischen Inseln.
Als Krankheitserreger bei Haustieren spielen Schistosomen nur eine untergeordnete Rolle: Schistosoma bovis kommt bei Rind, Schaf und Ziege in Afrika und in Mittelmeerländern vor. Schistosoma matthei ist bei Rind und Schaf in Süd- und Zentralafrika verbreitet.

2.2. Der Entwicklungszyklus

Schistosomen sind im Endwirt Parasiten des menschlichen oder tierischen Blutes. Sie unterscheiden sich von den anderen Trematoden dadurch, daß sie getrenntgeschlechtlich sind. Die 5 - 7 mm langen, dorsoventral abgeplatteten Männchen bilden durch Einrollen der Körperränder eine Längsbauchfalte, den Canalis gynaecophorus, in dem die längeren, dünneren, drehrunden Weibchen liegen.
Die Tiere leben in Dauerpaarung bei den menschenpathogenen Arten in den Portal- und Mesenterialvenen und in den Venen des Urogenitalsystems, besonders der Harnblase. Pathogenetisch sind nicht die Adulten als vielmehr die Eier bedeutsam. Sie obliterieren die Kapillaren, durchbrechen die Gefäßwände, gelangen schließlich infolge histolytisch-toxischer Wirkung in

das Darm- oder Harnblasenlumen und mit Harn und Kot ins Freie (Abb. 1 (1)).

Inzwischen haben sich in den Eiern Miracidien (Wimperlarven, (2)) entwickelt. Gelangen die Eier in Süßwasser, entschlüpfen die Miracidien (3) und suchen chemotaktisch den Zwischenwirt, die Schnecke, auf. Bei Schistosoma mansoni ist in Afrika Biomphalaria pfeifferi die wichtigste Zwischenwirtschnecke, in Südamerika Biomphalaria glabrata.

Nach dem Eindringen in die Schnecke verwandelt sich das Miracidium in ein sackartiges Gebilde - die Muttersporocyste (4). Von einem Keimepithel geht ab dem 15. Tag die parthenogenetische Bildung von Tochtersporocysten (5) aus, welche die Muttersporocyste verlassen und in die in der zentralen Windung des Schneckengehäuses liegende Mitteldarmdrüse ("Leber") wandern.

In den Tochtersporocysten bilden sich, wiederum ungeschlechtlich, die Gabelschwanzlarven - Cercarien (6), die 2. Larvengeneration. Sie verlassen ab dem 25. Tag nach der Infektion die Schnecke. Treffen die Cercarien im Wasser auf einen geeigneten Endwirt, so durchdringen sie unter Abstoßung des Schwanzes die Haut. Die jungen Egel wandern via Lymph- und Venensystem über die Lunge zur Leber. In den Pfortaderästen paaren sie sich und gelangen zur Geschlechtsreife. Mit der Eiablage ist der Zyklus geschlossen.

Abb. 1: Entwicklungskreislauf von Schistosoma mansoni (nach Piekarski, 1954). Erklärung im Text.

Für die Aufrechterhaltung des Lebenszyklus von Schistosomen müssen vor allem zwei Bedingungen erfüllt sein: Es muß eine genügend dichte Population von Zwischenwirt - Schnecken - vorhanden sein und es muß ausreichenden Kontakt zwischen Mensch und Cercarien geben. Die wachsenden Bevölkerungszahlen in den Ländern der Dritten Welt führen zu einer Steigerung der Nahrungsmittelproduktion, unter anderem durch die Bewässerung trockener Gebiete nach Anlage von Staudämmen und Kanalsystemen. Auf diese Weise werden Schnecken und Schistosomen weiter verbreitet. Die schlechten sanitären Verhältnisse und der häufige, ungeschützte Kontakt der Menschen mit dem cercarienverseuchten Wasser, sei es bei der Arbeit, wie bei Reisbauern, oder bei der Verwendung von Wasser im Haushalt, führt zu wiederholten Infektionen.
Die Cercarie, die Infektionslarve des Menschen, nimmt im Entwicklungszyklus von Schistosomen eine herausragende Stellung ein. Deshalb ist auch ihr Verhalten unter verschiedenartigen Umweltbedingungen von besonderem Interesse.

2.3. Die Cercarie

Die Cercarie kann bereits als juveniler Saugwurm bezeichnet werden, da einige ihrer anatomischen Gegebenheiten sich auch beim adulten Tier wiederfinden. (Abb. 2) Das Tegument der Cercarie verdient besondere Beachtung, da es den verschiedensten Umweltbedingungen ausgesetzt ist, zunächst dem Gewebe und der Haemolymphe der Schnecke, dann dem Süßwasser und dem Gewebe des Endwirtes; außerdem gehört es zu jenen Organen, die sich beim Adulten wiederfinden (Abb. 3).

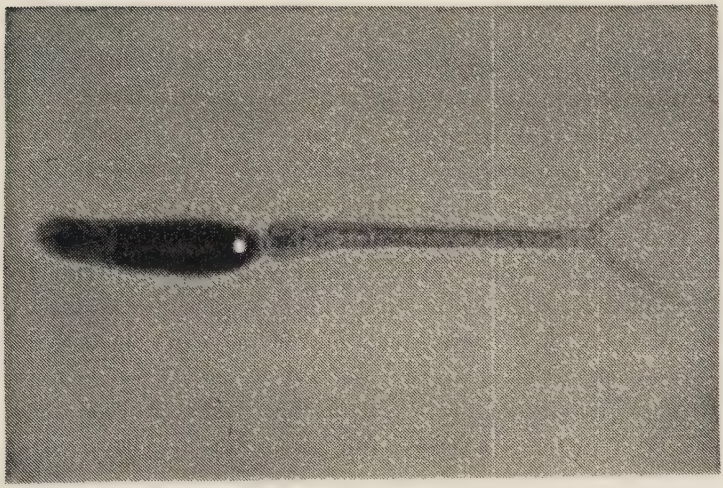


Abb. 2: Cercarie von Schistosoma mansoni (Länge = 0.5 mm).

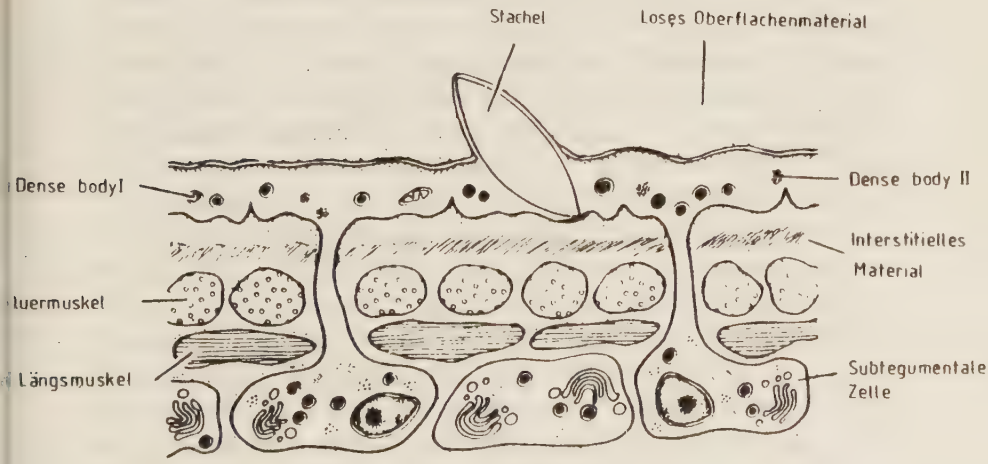


Abb. 3: Tegument der Cercarie (n. Smyth und Halton, 1983).
Das Oberflächenmaterial besteht aus Mucopolysacchariden.

Das Syncytium als Körperoberfläche ist physiologisch von Bedeutung, da es in Bezug auf den Stoffaustausch eine Sonderstellung zwischen sogenannten "Leaky-" und "Tight-" Epithelien einnimmt. Jeder Stofftransport muß auf Grund des Fehlens von parazellulären Transportwegen durch die Zellen selbst erfolgen (Podesta, 1983).
Das Exkretionssystem ist, neben der Körperoberfläche, entscheidend an den osmoregulatorischen Leistungen beteiligt. Es setzt sich aus Filterorganellen, ableitenden Gängen und dem Ausscheidungsorgan zusammen. Filtration und Flüssigkeitstransport sind die Aufgaben der Wimperflammenzellen, von denen sich 5 Paar im Körper und 1 Paar im Schwanz der Cercarie befinden. Sie bestehen aus trichterförmigen Hohlräumen in deren Grund ein Cilienbündel aus dem Cytoplasma der eigentlichen Zelle entspringt. An der Wand des Hohlraumes bildet ein System von Leisten eine Art Reuse. Der fur die Filtration nötige Druckgradient wird durch den Schlag der Wimpern erzeugt. Die Wimperflammenzellen gehen in feine, gewundene Ausführungsgange uber, welche in größere ableitende Kanäle münden, die zur Exkretionsblase führen. Diese ist als pulsierende Vakuole schon bei Herfs (1922) erwähnt. Sie liegt am Übergang vom Körper zum Schwanz und ist von feinen Muskelfasern umgeben. Der daraus ableitende Schwanzkanal ist ein schlaffer Schlauch, ohne eigene Muskelfasern und fuhrt zu den Exkretionspori in den beiden Schwanzspitzen. Das Syncytium des Teguments ist von der Auskleidung des Kanalsystems durch einen desmosomenartigen Spalt getrennt (Ebrahimzadeh und Kraft, 1970).
Die Umwelteinflüsse, mit denen sich die Cercarie im Laufe ihres Lebens auseinandersetzen muß, beschränken sich nicht auf die Schwankungen innerhalb eines Mediums. Beim Ausschlupfen aus der Schnecke wechselt sie in ein völlig anderes Milieu, von der Körperflussigkeit der Schnecke in Sußwasser. Aus diesem Grund verdient

dieser Vorgang besonderes Interesse.

2.4. Das Ausschlüpfen von Cercarien

Die Entwicklung der Trematoden in ihrem Zwischenwirt dient vor allem der Vermehrung. Wird eine Schnecke mit nur 1 Miracidium infiziert, so schlüpfen bis zu 1400 Cercarien täglich aus (Disko, 1974). Bereits 1922 stellte Cort fest: "one is struck with the large number of cercariae which must escape from an infested snail of this species during the course of a summer." Der Vorgang des Ausschlüpfens und die Faktoren, die ihn beeinflussen, wurden schon mehrfach untersucht.
Die Cercarien verlassen die Tochtersporozysten in der Leber und wandern mit dem Hämolymphefluß entlang des Venensystems des Verdauungstraktes bis zu den perirektalen Räumen im Bereich der hinteren und mittleren Abschnitte der Mantelhöhle und den angrenzenden Teilen des Mantels. Dort liegen sie subepithelial zusammengedrängt und bilden kleine "Blasen", die nach außen vorragen; Die Cercarie verläßt die Schnecke mit dem Vorderende zuerst, indem sie mit dem Mundsaugnapf das Epithel durchbohrt und der Körper sich durch heftige Bewegungen hindurchdrängt. Die einmal geschaffene öffnung wird von mehreren Cercarien zum Ausschlüpfen benutzt. Alles deutet daraufhin, daß der gesamte Vorgang ein aktiver Prozess ist (Richards, 1961).
Die Umwelteinflüsse, die auf diese Vorgänge einwirken, sind vielfältig, z.B. Temperatur, Licht, pH u.a..
Cort, (1922) untersuchte als erster die Wirkung der Umgebungstemperatur auf die Anzahl der schlüpfenden Cercarien: Bei Temperaturen von 27 - 28°C fand er pro Schnecke 1000 - 2000 geschlüpfte Cercarien nach 3 Stunden, während eine Temperatur von 4°C die Zahl der gefundenen Cercarien (Cercaria elephantis) auf 281

zurückgehen ließ. Das Ausschlüpfen auch der Cercarien von S. mansoni unterliegt einer circadianen Rhythmik. Bei einem Licht-Dunkel Verhältnis von 12 : 12 h, liegt das Maximum der Ausscheidung in der 5. Stunde nach Beleuchtungsbeginn. Während der Dunkelheit findet so gut wie keine Ausscheidung statt (Disko, 1974).

Der pH-Wert des Wassers hat unter natürlichen Bedingungen keine beeinträchtigende Wirkung auf den Ausstoß von Cercarien, die Toleranzgrenzen der Schnecken sind relativ weit; in einem Bereich zwischen pH = 5.5 - 8.5 ist der Prozentsatz der Cercarien ausscheidenden Schnecken nahezu gleich (Kendall und McCullough, 1951). Auch Gumble et al. (1957) fanden, daß die Cercarienzahlen in einem pH-Bereich von 6.0 - 8.0 wenig variieren.

Die ausgesprochen starke, individuelle Streuung der Cercarienausscheidung bei Schnecken, die in gleicher Weise infiziert und gehalten wurden, stellt eines der Charakteristika der Wirt-Parasitbeziehung von Biomphalaria glabrata und Schistosoma mansoni dar. Disko (1974) fand bei 61 Schnecken am 38. Tag post infectionem eine durchschnittliche Cercarienausschüttung von 2062 je Schnecke, mit einer Standardabweichung von 998; Einzelwerte lagen zwischen 600 und 6000 Cercarien.

2.5. Die Spontanaktivität von Cercarien und die reizphysiologischen Grundlagen dieser Arbeit

2.5.1. Die Spontanaktivität von Cercarien

Die Aufgabe der Lebensform Cercarie im Entwicklungszyklus aller Trematoden ist die der Wirtsfindung; daraufhin sind ihre ganzen Lebensvorgänge ausgerichtet. Als "freie" Cercarie im engeren Sinn bezeichnet man solche, die aus der Schnecke bereits geschlüpft sind und noch nicht dabei sind, in den Wirt einzudringen. Die meisten Cercarien suchen ihren zweiten Zwischenwirt - bei Schistosomatiden den Endwirt - aktiv auf, um in ihn einzudringen (Dönges, 1980). Ihre Bewegungsabläufe unterliegen einer gewissen Periodik. Die meisten Trematodenarten zeigen intermittierendes Schwimmverhalten: Kurzzeitige Schwimmstöße wechseln mit längeren Phasen der Passivität ab (Erasmus, 1972). Die Cercarien von Schistosoma mansoni schweben während der Passiv-Phase (kurz: P-Phase) mit dem Vorderende nach unten im Wasser und sinken dabei langsam ab; ihr Gabelschwanz (Furca) dient dabei als Treibanker, er ist ausgebreitet und an den Enden eingerollt (Graefe et al., 1967).
Die P-Phase wird von kurzzeitigen Schwimmstößen (Aktiv-Phase = A-Phase) unterbrochen. Saladin (1979) untersuchte die Abhängigkeit der A-Phasenfrequenz vom Alter der Cercarien (Schistosoma mansoni); diese blieb bis zu 4 Stunden nach dem Schlüpfen gleich. Cercarien von Schistosoma mansoni zeigen zweierlei Arten von Aktivität: Als Rückwärtsschwimmen bezeichnet man diejenigen Schwimmstöße, die mit dem Schwanz voraus erfolgen; sie sind weitaus am häufigsten. Die abgespreizten Furca-Äste werden dabei als Ruder verwendet, der Schwanzstamm krümmt sich rasch

abwechselnd in der Richtung des einen oder anderen Astes in einer Ebene. Die elastische Furca unterstützt die Bewegung passiv (Dönges, 1964). Der Weg der Cercarien ist helikal, in der Regel führt ein Schwimmstoß die Cercarie nach oben. Beim sehr seltenen Vorwärtsschwimmen streckt sich die Cercarie, der Körper wird um 30 - 40 % länger und schmaler, die Furca-Enden werden aneinandergelegt (Graefe et al., 1967). Cercarien von Schistsoma mansoni verhalten sich negativ geotaktisch; deshalb konzentriert sich ein Cercarienschwarm in der Nähe der Wasseroberfläche. Nach Pellegrino und Valle (1974) halten sich 75 % der Cercarien in der obersten Schicht (1 cm) des Wassers auf.

2.5.2. Die Reaktion von Cercarien auf Lichtreize

Die Cercarien der verschiedenen Schistosomatiden sind auf unterschiedliche Weise mit Lichtsinnesorganen ausgestattet.

Fain (1953) zählt einige Cercarien ohne Augen auf:

* Schistosoma bovis
* Schistosoma spindale
* Schistosoma mansoni
* Schistosoma albertina

und einige Cercarien mit Augen:

* Schistosoma douthitti
* Bilharziella polonica
* Trichobilharzia ocellata.

Die elektronenmikroskopisch sichtbare Feinstruktur eines möglichen Photorezeptors bei Cercarien von Schistosoma mansoni beschreiben Short und Gagne (1975). Sie interpretieren zwei ovoide Strukturen am Vorderende der Cercarien als Photorezeptoren. Diese bestehen aus einer dunnen, cytoplasmatischen Wand, welche eine

Vertiefung umgibt. In dieser Vertiefung befinden sich Lamellen, die die Fortsetzung von Cilien sind, die aus der innern Wand der Vertiefung hervorkommen.
Die Spontanaktivität von Cercarien kann durch Lichtreize beeinflußt werden, die Reaktion hängt von Art, Dauer und Intensität der Lichtwechsel ab. Auf Dunkelreize reagieren Cercarien allgemein mit Aktivitätssteigerung (Haas, 1969).

2.6. Osmotische Faktoren und anorganische Ionen in der Umwelt der Cercarien

2.6.1. Osmoregulation bei Wassertieren

Die im Wasser lebenden Tiere sind mit dem Problem konfrontiert, wie sie die unterschiedliche Zusammensetzung ihrer Körperflüssigkeiten im Vergleich mit dem sie umgebenden Medium aufrechterhalten. Die einfachste Lösung ist die der poikilosmotischen Tiere (= Osmokonformer): Sie passen die Osmolarität ihrer Körperflüssigkeiten dem umgebenden Medium an, wenn auch manche in etwas anderer Ionenzusammensetzung. Man findet sie im allgemeinen im Salzwasser. Als homoiosmotisch bezeichnet man solche Lebewesen, deren Körperflüssigkeiten eine höhere Konzentration an Ionen und organischen Substanzen aufweisen als ihre Umgebung und die somit gezwungen sind, diese Konzentration durch Energieaufwand ständig aufrechtzuerhalten, d.h. Wasser auszuscheiden; meist leben solche Osmoregulierer im Süßwasser. Bei euryhalinen Tieren ist der Toleranzbereich für osmotische Abweichungen des Mediums groß, bei stenohalinen Tieren gering - beide Eigenschaften kommen sowohl bei homoi- wie auch bei poikilosmotischen Tieren vor.

Einzeller, ob sie im Salz- oder Süßwasser leben, sind meist Osmokonformer, da ihre Oberfläche im Verhältnis zum Volumen sehr groß ist und Osmoregulation zu energieaufwendig wäre. Sie besitzen als Ausscheidungsorganelle eine kontraktile Vakuole, die eingedrungenes Wasser ausscheidet.
Tiere, die in einer Umgebung leben, die starken Schwankungen im Salzgehalt unterworfen ist, wie z.B. Brackwasser (von 0.5 - 35 ‰) sind immer euryhalin. Sie müssen entweder sehr potente Osmoregulatoren sein, wie Muscheln, die im verdünnten, wie im konzentrierten Medium osmoregulieren können: z.B. Anguilla rostrata (Schmidt-Nielsen, 1975) oder Osmokonformer, wie Mytilus edulis (Krogh, 1965).
Cercarien von Schistosoma mansoni, S. matthei und S. japonicum, die alle im Süßwasser leben, zeigen eine Salztoleranz bis 5.25 ‰. Bei einer weiteren Zunahme der Salzkonzentration nimmt ihre mittlere Überlebenszeit stark ab (Donnelly et al., 1983). Die praktische Bedeutung der Salzkonzentration für die Infektiosität der Cercarien untersuchte Ingalls (1946). Er wurde beauftragt, in Bilharziosegebieten der Philippinen zu untersuchen, inwiefern beim Baden im Meer, in der Nähe von Flußmündungen eine Gesund-heitsgefährdung durch Cercarien bestünde. Er kam zu dem Ergebnis, daß das Baden in Meerwasser mit einem Salzgehalt von 3 % völlig gefahrlos ist, bei 1.5 % jedoch können die Cercarien lange genug für eine Infektion überleben. Die Bedeutung einer funktionierenden Osmoregulation für alle Tiere liegt darin, daß Zellmembranstrukturen und -funktionen aufrechterhalten werden und zu starkes Schwellen und Schrumpfen - und damit größere Permeabilitätsänderungen - vermieden werden. Eine gleichbleibende intrazelluläre Kaliumkonzentration, wichtig für eine Reihe von zellulären Prozessen, ist damit gesichert.

2.6.2. Kalium und Magnesium

Kalium- und Magnesiumionen spielen beide eine wichtige Rolle in den physiologischen Vorgängen der belebten Natur. In vielzelligen Organismen befindet sich Kalium überwiegend intrazellulär in einer Konzentration von 100 - 160 mMol/kg gegenüber einer extrazellulären Konzentration von 3.5 - 5 mMol, (Na_i : Na_a = 30 : 145 mMol). Dieses Konzentrationsgefälle wird durch die Na/K-Pumpe aufrechterhalten, wobei die benötigte Energie durch die Hydrolysierung von ATP geliefert wird. Die Aufrechterhaltung des Quotienten zwischen intra- und extrazellulärem Kalium ist für den gesamten Organismus von Bedeutung, vor allem für die Muskelfasern, in denen sich 3/4 des Körperkaliums befinden.

Mit steigender Stoffwechselintensität nimmt die extrazelluläre Kaliumkonzentration zu: So findet man im Blut und im Muskelpreßsaft von Anadonta sehr niedrige Kaliumwerte; Muscheln sind sehr träge Tiere (Buddenbrook, 1956).

Enge Beziehungen bestehen zwischen Kalium und Magnesium, dem zweithäufigsten, intrazellulären Ion. Experimentell wurde festgestellt, daß bei der Ratte unter einer Magnesiummangeldiät ein intrazellulärer Kaliumverlust auftrat (Whang und Welt, 1963). Die zentrale Rolle, die Magnesium in Biologie und Medizin spielt, erklärt sich aus seinem Atomaufbau. Ein kleiner Atomradius und 2 Valenzen bedingen die starke Neigung von Magnesium zur Komplexbildung mit vielen Dipolen, z.B. Phosphaten. Magnesium ist besonders wichtig als Cofaktor bei der oxidativen Phosphorylierung. Wegen seiner 2 Angriffspunkte wirkt es ferner stabilisierend auf die helikale Struktur der DNS.

Werden Cercarien von <u>Schistosoma mansoni</u> in einer 0.001 M Magnesiumlösung gehalten, so ist der

Infektionserfolg bei weiblichen weißen Mäusen 123 %; als 100 % wurde der Infektionserfolg von Cercarien gesetzt, die in destilliertem Wasser gehalten wurden (Lewert et al., 1966).

2.7. Problemstellung der eigenen Arbeit

Für ein tieferes Verständnis der Biologie der Schistosomen und einen vielleicht daraus resultierenden Ansatz einer neuartigen Bekämpfungsmöglichkeit ist eine genaue Kenntnis der physiologischen Vorgänge im Lebenszyklus der Parasiten und deren Vernetzung mit der Umwelt unerläßlich. In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung ausgewählter Umwelteinflüsse auf Cercarien von *Schistosoma mansoni* untersucht. Lösungen mit verschiedenen Magnesium-, Kalium- und Natriumionenkonzentrationen wurden verwendet, um ihren Einfluß auf die Anzahl der in einem bestimmten Zeitabschnitt ausschlüpfenden Larven zu prüfen. Neben der Zahl der vorhandenen Cercarien ist vor allem auch deren Aktivität für den Infektionserfolg und damit für die Erhaltung und Ausbreitung der Art bedeutsam. Es wurde die Veränderung der Cercarienaktivität in Lösungen mit verschiedenen Magnesium-, Kalium- und Natriumkonzentrationen untersucht (entsprechend den in der Schneckenhämolymphe vorkommenden Konzentrationen oder Vielfachen davon) im Vergleich zur Aktivität in Aqua dest.. Dabei wurde sowohl die Spontanaktivität als auch die Aktivität nach einem Dunkelreiz geprüft, wovon eine Hinweis auf die Erregbarkeit und die Energiereserven der Larven in den verschiedenen Versuchslösungen erwartet wurde. Neben den oben genannten Testmedien, die nur jeweils eine Art von Kationen enthielten, wurden bei den Aktivitätstests auch Lösungen mit Mischungen dieser Salze untereinander und mit Glucose verwendet, die jeweils gleichen osmotischen Druck hatten. Dies geschah um zu unterscheiden, ob die beobachteten Effekte spezifische Wirkungen der oben genannten Kationen waren, oder nur auf den osmotischen Unterschieden zwischen den Versuchslösungen beruhten.

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Material und Methoden

3.1.1. Aufrechterhaltung des Infektionszyklus im Laboratorium

Parasiten: *Schistosoma mansoni*, Stamm Hoechst, Herkunft Brasilien;

Zwischenwirt: Albinoschnecken: *Biomphalaria glabrata*, Stamm Hoechst, Herkunft Brasilien

Endwirt: SWISS-Mäuse, weiß, männlich, Infektion im Alter von 8 Wochen.

3.1.1.1. Haltung der Schnecken

In Glasaquarien (20 l) befanden sich 100 infizierte Schnecken gleicher Größe und damit gleichen Alters (Bauer, 1982). Die Wassertemperatur betrug 27°C bei einem pH von 7,2 - 7,4 und einer Wasserhärte von 8 Grad dH. Die Becken wurden belüftet und alle 2 Wochen gereinigt. Der Raum, in dem sich die Aquarien befanden, war vollständig gegen Außenlicht abgedunkelt und wurde mit Tageslicht-Leuchtstoffröhren, die an eine Zeitschaltautomatik angeschlossen waren, beleuchtet. Der Hell/Dunkel-Wechsel erfolgte im 12-Stunden-Rhythmus ohne Dämmerungsphase (Lichttag von 6 Uhr bis 18 Uhr). Die Schnecken wurden täglich mit frischem, gewaschenen Kopfsalat gefüttert.

3.1.1.2. Infektion der Schnecken

100 Schnecken von ca. 5 mm Durchmesser wurden einzeln in die Kammern einer Makrotiterplatte (Polyäthylen) gesetzt; Leitungswasser (27°C) und jeweils 15 - 20 Miracidien dazu gegeben. 6 Stunden standen die Tiere

unter einer Glühlampe (60 Watt) über Nacht im Dunkeln und am folgenden Morgen wurden die infizierten Schnecken in ein Aquarium überführt. Nach 28 Tagen schütteten etwa 90 % der Tiere Cercarien aus.

3.1.1.3. Infektion der Mäuse und Gewinnung der Miracidien

Um die Cercarien zur Infektion der Mäuse zu gewinnen, wurden 10 Schnecken in 20 ml Wasser (destilliertes Wasser + Leitungswasser 1 : 1) gesetzt und 2 Stunden stehen gelassen (27 C) Glühlampe mit 60 Watt). Dann wurden die Cercarien von 0.1 ml gezählt. Pro Maus wurden ca. 200 Cercarien injiziert. Die Injektion erfolgte subcutan. Nach 6 Wochen wurden aus dem homogenisierten Darm der getöteten Mäuse die Miracidien gewonnen.

3.1.2. Versuchsbedingungen

Alle nachfolgend beschriebenen Untersuchungen, wurden in dem Raum durchgeführt, in dem sich auch die Aquarien mit den Schnecken befanden, so daß die Umweltbedingungen wie Licht (Leuchtstoffröhren OSRAM "Daylight 5000 de Luxe") und Temperatur (27 C im Wasser) für Schnecken und Cercarien dauernd konstant blieben.
Jede Schnecke wurde nur einmal in einem Versuch verwendet.
Alle Schnecken, die an einem Versuchstag verwendet wurden, stammten aus derselben Charge, d.h. sie waren am selben Tag infiziert worden.

3.1.2.1. Schlüpfversuche

Schlüpfversuche I-II: Drei mit lauwarmem Wasser vorsichtig abgespülte, infizierte Schnecken wurden in ein Becherglas mit 20 ml der zu untersuchenden Flüssigkeit (Tab. 1) gesetzt und dort von 9.30 Uhr bis 12.00 Uhr (Zeit maximaler Cercarienausscheidung; Disko, 1974) belassen. Um 12.00 Uhr wurden die Schnecken entfernt und die Flüssigkeit mit den Cercarien durch eine doppelte Lage Gaze gefiltert, um Schneckenkot und andere Verunreinigungen zu entfernen. Mit einigen Tropfen Jodtinktur wurden die Cercarien abgetötet und danach ausgezählt (Disko, 1974). Schlüpfversuche III - IV: Zehn abgespülte Schnecken wurden für dieselbe Zeitspanne in 50 ml Ionenlösung (Tab. 1) gegeben; nach dem Entfernen der Schnecken wurde, wie oben beschrieben, filtriert. Um die Cercarien gleichmäßig in der Flüssigkeit zu verteilen wurden die Bechergläser dann ca. 10 sec geschwenkt und während dessen 10 ml der Suspension mit einer Pipette entnommen. Diese 10 ml wurden in die Zählkammer verbracht und dort erst wurden die Cercarien mit Jod abgetötet und ausgezählt.

Tab. 1: Lösungen, die auf ihren Einfluß auf die Cercarienausscheidung von Biomphalaria glabrata untersucht wurden.

Schlüpfversuch	Lösung	Konzentration
I	Aqua dest.	
	Leitungswasser (LW)	
20 ml	LW : Aqua dest.	1 : 1
3 Schnecken	Aqua dest. : 0.9 % NaCl	1 : 1
	"	1 : 4
	"	1 : 10
II	Aqua dest.	
	KCl	0.10 g/l
20 ml	$MgSO_4$	0.45 g/l
3 Schnecken		
III	Aqua dest.	
	$MgSO_4$	1.8 g/l
50 ml		3.6 g/l
10 Schnecken		

Schlüpfversuch	Lösung	Konzentration
IV 50 ml 3 Schnecken	Aqua dest. $MgSO_4$	1.8 g/l 3.6 g/l
	Aqua dest. $MgSO_4$	3.6 g/l 7.2 g/l 10.8 g/l
	Aqua dest. $MgSO_4$	7.2 g/l 13.5 g/l 16.2 g/l
	Aqua dest. KCl	0.40 g/l 0.80 g/l
	Aqua dest. NaCl	0.65 g/l 1.30 g/l

3.1.2.2. Aktivitätstests

Für einen Aktivitätstest wurden um 9.30 Uhr 3 infizierte Schnecken gleicher Größe aus dem Aquarium entnommen, unter lauwarmem Wasser kurz abgespült, um Kot- und Futterpartikel zu entfernen und in ein Becherglas mit 20 ml der zu untersuchenden Lösung (Tab. 2) gegeben. Um 12 Uhr wurden die Schnecken wieder aus

der Lösung entfernt, die Lösung filtriert und die Cercarien in Küvetten verteilt (HELLMA, Präzisionsküvetten aus optischem Spezialglas, 45 x 10 x 2 mm). Mit einer Kapillare wurde die Oberfläche der Lösung abgesaugt, da sich dort die meisten aktiven Cercarien aufhielten. Die Cercarien wurden dann in die Küvetten verteilt, so daß sich in jeder Küvette 5 - 9 Larven befanden. Die Küvetten wurden dann mit der zu untersuchenden Lösung aufgefüllt. Die Zahl der Cercarien wurde mit Hilfe einer Lupenbrille (Carl Zeiss, 5-fache Vergrößerung), die auch bei allen späteren Beobachtungen verwendet wurde, festgestellt. Pro Versuchstag wurden 30 (± 5) Cercarien verwendet. Insgesamt wurden pro Lösung 150 - 180 Cercarien beobachtet. Die Küvetten wurden mittels eines kleinen Stopfens aus Knetmasse im Ständer befestigt (Versuchsanordnung siehe Abbildung 4).
Um 12.30 Uhr waren die Cercarien auf die Küvetten verteilt. Von da an wurden die Cercarien halbstündlich beobachtet. Mit der Lupenbrille wurden von jeder Küvette der Reihe nach die Zahl der sichtbaren - d.h. schwimmenden oder schwebenden - Cercarien festgestellt (= Spontanaktivität). Um einen Dunkelreiz auszuüben, wurde dann ca. 1 sec lang ein kleiner Plastikbecher darübergestülpt, ohne dabei die Küvette zu erschüttern. Danach wurden wieder die sichtbaren Larven gezählt (= Aktivität nach Dunkelreiz). Ein Beobachtungsdurchgang dauerte ca. 7 - 8 min. Die Beobachtungen wurden von 13 - 16 Uhr durchgeführt.

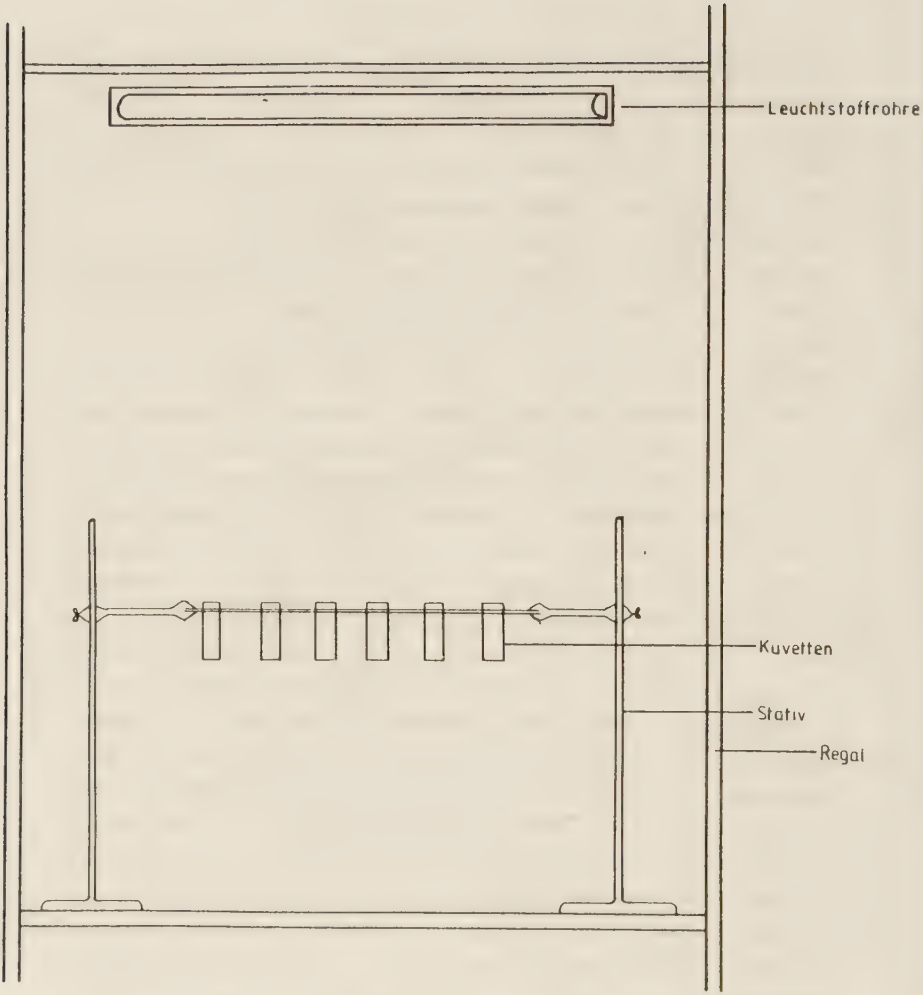


Abb. 4: Versuchsaufbau für die Aktivitätstests:
Die Cercarien wurden von 12.30 - 16.00 Uhr halbstündlich in den Glasküvetten (45 x 10 x 2 mm) mittels einer Lupenbrille beobachtet und die Zahl der schwimmenden und schwebenden Cercarien vor und nach Dunkelreiz festgehalten.

Tab. 2: Lösungen, die auf ihren Einfluß auf die Spontanaktivität und die Aktivität nach einem Dunkelreiz von Cercarien von *Schistosoma mansoni* untersucht wurden.

Untersuchte Ionenkonzentrationen		
KCl	0.10 g/l 0.20 g/l 0.80 g/l	= 1.4 mMol = 2.8 mMol = 11.2 mMol
$MgSO_4$ $7H_2O$	0.45 g/l 1.8 g/l 3.6 g/l 7.2 g/l	= 1.8 mMol = 7.2 mMol = 14.4 mMol = 28.8 mMol
$MgSO_4$ 7 H_2O Glucose	3.6 g/l + 6.17 g/l	= 48 mMol
NaCl	0.65 g/l	= 11.2 mMol
NaCl + $MgSO_4$ 7 H_2O	0.65 g/l + 3.6 g/l	= 25.6 mMol
KCl + $MgSO_4$ 7 H_2O	0.10 g/l 0.45 g/l	= 3.2 mMol
Kontrolle	Aqua dest.	

3.1.3. Statistische Methoden

Zum Vergleich der Cercarienzahlen in den Schlüpfversuchen wurde der Friedman-Test (vgl. Ramm und Hofmann, 1982) angewendet. Er ist geeignet zur Untersuchung voneinander abhängiger Stichproben, die verteilungsunabhängig sind. Die Stichproben sind deshalb als voneinander abhängig zu bezeichnen, weil die Schnecken eines Versuchstages immer aus demselben Aquarium stammten und am selben Tag infiziert worden waren, und somit nur die Schlüpfergebnisse in den verschiedenen Lösungen dieses Tages miteinander zu vergleichen sind. Die Cercarienzahlen variierten von Tag zu Tag ganz beträchtlich und waren nicht normalverteilt. Deshalb mußte ein Test verwendet werden, der es gestattete, voneinander abhängige, nicht normalverteilte Stichproben miteinander zu vergleichen.

Der Friedman-Test prüft die Nullhypothese H_0: Alle Stichproben entstammen derselben Grundgesamtheit.
Dazu wurden die Schlüpfzahlen eines jeden Tages in eine Rangordnung gebracht. Die Rangzahlen für jede der untersuchten Lösungen wurden summiert. Das ergab die Rangsumme R_i. Aus diesen Rangsummen für jede Lösung wurde eine Prüfgröße berechnet, die mit einem Tabellenwert verglichen wurde. War die errechnete Prüfgröße gleich oder größer als der kritische Tabellenwert, so war die Nullhypothese mit der entsprechenden Irrtumswahrscheinlichkeit abzulehnen. Das heißt, daß die Cercarienzahlen nicht zufällig variierten, sondern in Abhängigkeit vom Schlupfmedium. Um genauer zu prüfen, zwischen welchen Lösungswerten die Unterschiede bestanden, wurde anschließend der Wilcoxon-Wilcox-Test angewendet.
Dabei wurden die Differenzen zwischen den jeweiligen Rangsummen gebildet und ebenfalls mit einem

Tabellenwert verglichen. Wenn die gefundene Differenz D größer als der Tabellenwert war, konnte gefolgert werden, daß mit der entsprechenden Irrtumswahrscheinlichkeit die Unterschiede in der Anzahl der geschlüpften Cercarien statistisch gesichert waren.

Unterschiede zwischen den Aktivitätskurven wurden auf zwei Arten verdeutlicht. Zum einen wurden sie gezeichnet und der Kurvenverlauf direkt miteinander verglichen (vgl. Abb. 15 - 19).
Zum anderen wurde für jeden Versuchstag die Fläche unter der Kurve berechnet. Aus der Größe dieser Flächen konnte für jede untersuchte Lösung der Mittelwert und die Standardabweichung berechnet werden (Abb. 20); dann wurden die Unterschiede zwischen den Ergebnissen der einzelnen Ionenlösungen mit dem t-Test geprüft (Tab. 4).
Der t-Test ist geeignet für zwei voneinander unabhängige Stichproben, die normalverteilt sind. Er ist der "mächtigste" Test. Er kann schon bei verhältnismäßig kleinen Stichprobenzahlen bestehende Unterschiede hinreichend verdeutlichen.
Um ihn anzuwenden müssen verschiedene Vorraussetzungen erfüllt sein:
1. Die beiden Stichproben müssen normal- oder wenigstens annährend normalverteilt sein. Das wird mit Hilfe des Testes nach David, Pearson und Stevens (vgl. Ramm und Hofmann, 1982) überprüft.
2. Die beiden Stichproben müssen etwa gleich stark um den jeweiligen Mittelwert streuen, d.h. ungefähr gleiche Varianzen haben, was man mit dem F-Test überprüft.

Erst wenn diese Vorraussetzungen erfüllt sind, kann die Prüfgröße t berechnet werden. Ist diese Prüfgröße t größer als ein kritischer Tabellenwert, so wird die

Nullhypothese H_0 (beide Stichproben entstammen derselben Grundgesamtheit) mit der entsprechenden Irrtumswahrscheinlichkeit α abgelehnt. Das heißt, es besteht mit der Wahrscheinlichkeit von $100 - \alpha$ ein Unterschied zwischen den Stichproben, in diesem Fall den Flächen unter den Aktivitätskurven.

3.2. Ergebnisse

3.2.1. Schlüpfversuche

Die Versuchsreihe Schlüpfversuche I ergab keine verwertbaren Ergebnisse. Die Streuung der Daten war zu groß, um Aussagen darüber machen zu können, wie der Schlüpfvorgang durch die unterschiedlichen Salzkonzentrationen beeinflußt wird (Tab. 3, Abb. 5).

Tab. 3: Schlüpfversuch I (3 Schnecken in 20 ml Lösung). Angegeben ist die Anzahl freier Cercarien in 20 ml Lösung nach einer Schlüpfzeit von 3 Stunden (9.30 Uhr - 11.30 Uhr)

Versuchstag	1	2	3	4
Aqua dest	434	116	404	42
Leitungswasser (LW)	2172	304	138	10
LW : Aqua dest. 1 : 1	1394	100	910	16
Aqua dest : NaCl 0.9 % 1 : 1	226	52	18	82
1 : 4	220	358	132	44
1 : 10	86	314	127	404

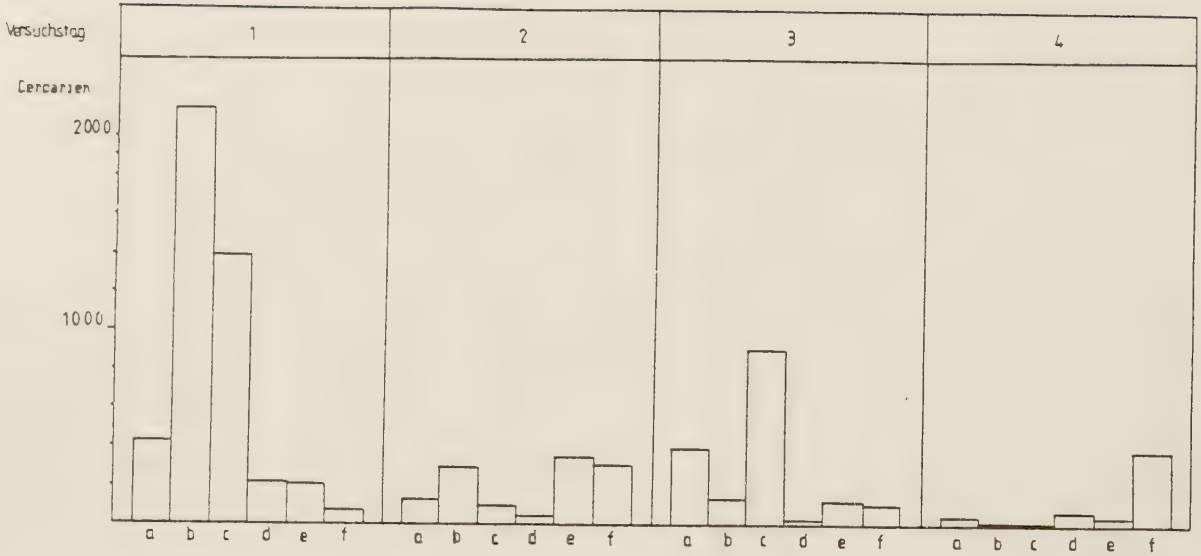


Abb. 5: Stabdiagramm zu Schlüpfversuch I:
3 Schnecken in 20 ml Lösung, Schlüpfdauer 3 Stunden (9.30 - 12.00 Uhr); es wurden jeweils die Cercarien der gesamten Lösung ausgezählt. Die Versuche wurden an 4 Tagen durchgeführt.

a = Aqua dest.

b = Leitungswasser

c = Aqua dest. : Leitungswasser = 1 : 1

d = Aqua dest. : NaCl = 1 : 1

e = Aqua dest. : NaCl = 1 : 4

f = Aqua dest. : NaCl = 1 : 10

Schlüpfversuche II

Die Verwendung von Aqua dest., 0.10 g/l KCl und 0.45 g/l $MgSO_4$ in dieser Versuchsreihe gab, wie die Schlüpfversuche I, keinen Hinweis auf eine Beeinflussung des Cercarienschlüpfens durch Ionen oder osmotische Unterschiede (Abb. 6).

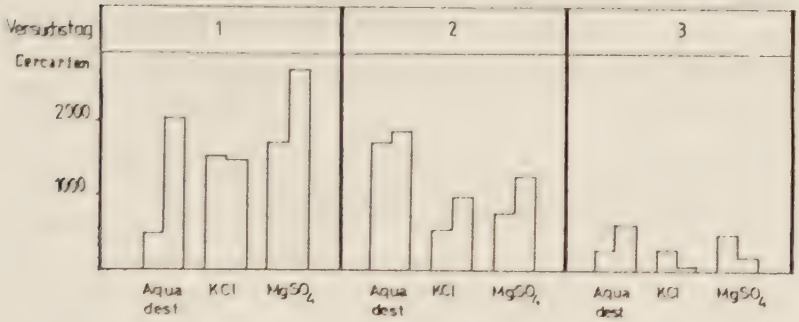


Abb. 6: Stabdiagramm zu Schlüpfversuch II:
3 Schnecken in 20 ml Lösung, Schlupfdauer 9.30 - 12.00 Uhr; es wurden jeweils die Cercarien der gesamten Lösung ausgezählt. An jedem Tag wurde der Versuch mit jeder Lösung zweimal durchgeführt.

In den folgenden Versuchsreihen wurde die Versuchsdurchführung, aufgrund der zu großen Streuung der Ergebnisse in den vorherigen Versuchen, grundsätzlich geändert. Es wurden jeweils 10 Schnecken in 50 ml Lösung angesetzt und daraus Proben von jeweils 10 ml ausgezählt.

Schlüpfversuche III

In dieser Versuchsreihe wurde zunächst geprüft, wie groß die Streuung ist, wenn aus ein und demselben Versuchsansatz mehrere Proben gezogen und ausgezählt

werden. Abb. 7 zeigt die Mittelwerte der Cercarienzahlen aus den einzelnen Versuchsansätzen mit den dazugehörigen Standardabweichungen. Der Variationskoeffizient, er gibt an wie groß die Standardabweichung im Vergleich zum Mittelwert ist, beträgt bei dieser Versuchsreihe etwa 10 %. Die Versuche wurden an unterschiedlichen Tagen durchgeführt. Es wurden jeweils Schnecken derselben Charge verwendet, jedoch nie dieselben Schnecken.
Aus Abb. 7 geht hervor, daß eine $MgSO_4$-Konzentration von 3.6 g/l die Cercarienausbeute gegenüber Aqua dest. stark steigert.

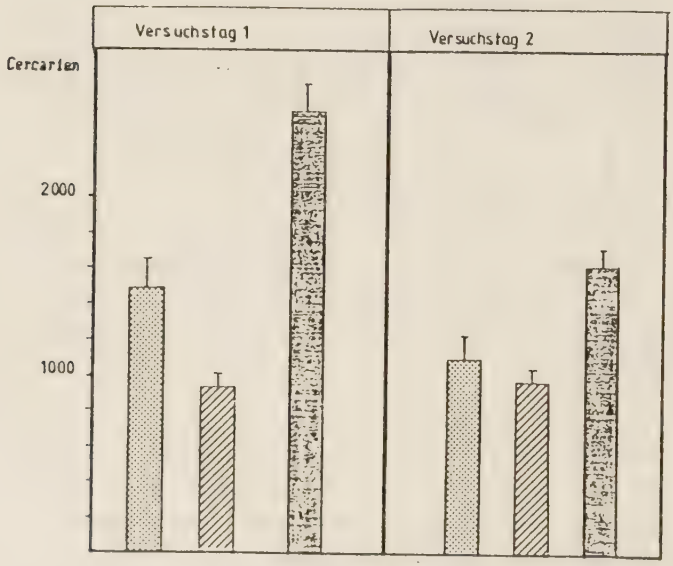


Abb. 7: Stabdiagramm zu Schlüpfversuch III:
10 Schnecken in 50 ml Lösung, Schlüpfdauer 9.30 - 12.00 Uhr; es wurden die Cercarien von jeweils n=4 Stichproben à 10 ml ausgezählt. Die Versuche wurden an 2 Tagen durchgeführt.

= Aqua dest.

= 1.8 g/l $MgSO_4$

= 3.6 g/l $MgSO_4$

In den Schlüpfversuchen IV wurde das Verfahren aus der Versuchsreihe III beibehalten, es wurde jedoch nur mehr eine Probe pro Versuchsansatz ausgezählt. An einem Tag wurde je ein Versuch mit Aqua dest, 1.8 g/l und 3.6 g/l $MgSO_4$ angesetzt. Die Daten sind in Abb. 8 dargestellt. Die Tendenz der Schlüpfversuche III bestätigte sich. Die Cercarienausbeute war bei einer Magnesiumsulfatkonzentration von 3.6 g/l deutlich höher als bei Verwendung von destilliertem Wasser oder 1.8 g/l Magnesiumsulfat als Schlüpfmedium.

Bei der statistischen Überprüfung der Daten ergab sich ein signifikanter Unterschied mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 0.01$ zwischen den Zahlen der in Aqua dest. und der in 3.6 g/l Magnesiumsulfatlösung geschlüpften Cercarien (Abb. 11). Bei weiteren Versuchsdurchgängen mit Magnesiumsulfatkonzentrationen von 3.6 g/l, 7.2 g/l und 10.8 g/l, sowie 7.2 g/l, 13.5 g/l und 16.2 g/l wurde keine weitere Steigerung der ausgeschiedenen Cercarien mehr festgestellt (Abb. 9, 10).
Dieselbe Versuchsreihe wurde auch durchgeführt mit Natriumchloridkonzentrationen von 0.32 g/l, 0.65 g/l und Aqua dest. als Kontrolle. Die Anzahl der aus den Schnecken schlüpfenden Cercarien wurde durch diese Natriumchloridkonzentrationen nicht erkennbar beeinflußt (Abb. 12).
Auch bei einer Versuchsreihe mit unterschiedlichen Kaliumchloridkonzentrationen konnten keine signifikant voneinander abweichenden Cercarienzahlen gefunden werden (Abb. 13).

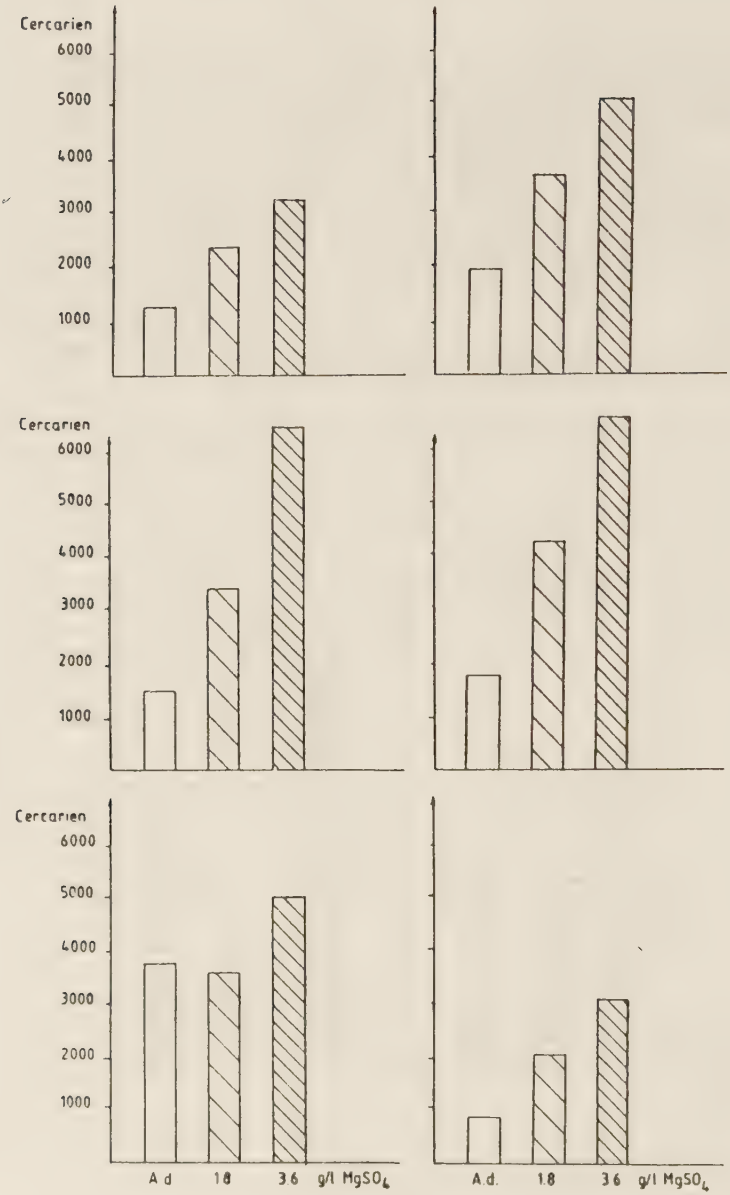


Abb. 8: Stabdiagramm zu Schlüpfversuch IV:
Ausschüttung von Cercarien in Lösungen mit verschiedenen Magnesiumkonzentrationen; 10 Schnecken in 50 ml Ionenlösung; es wurden jeweils die Cercarien aus einer Stichprobe von 10 ml ausgezählt. Die Diagramme zeigen die Ergebnisse verschiedener Versuchstage.
A.d. = Aqua dest.

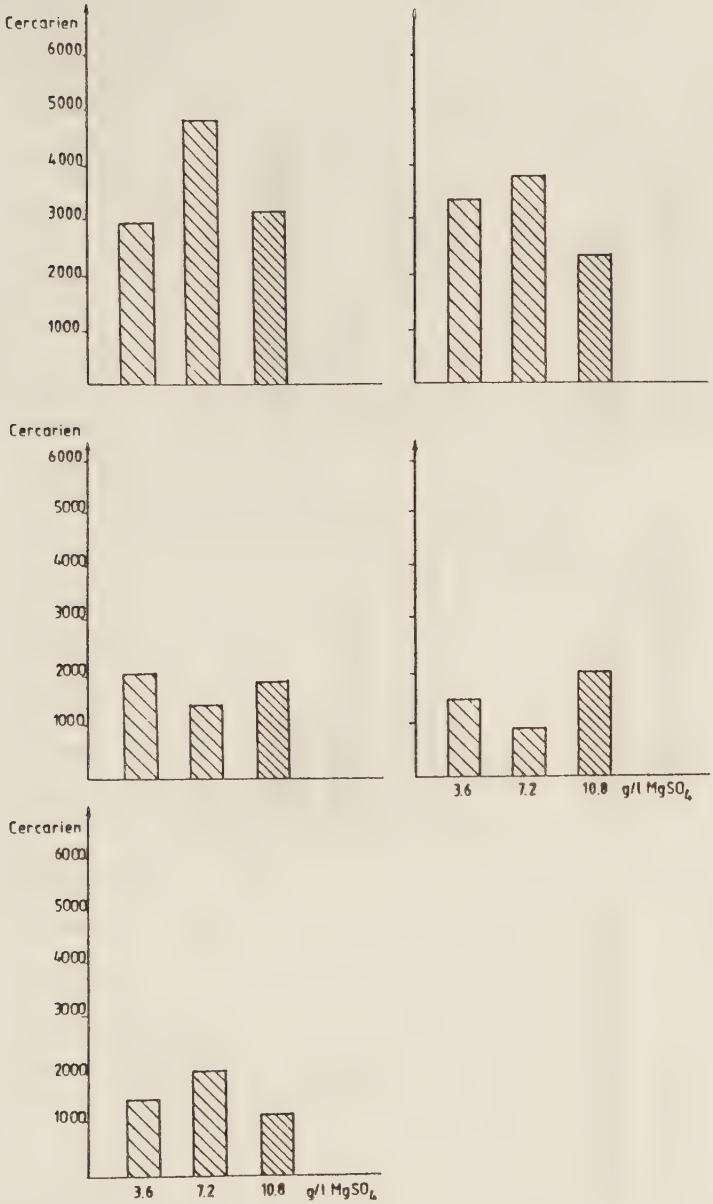


Abb. 9: Stabdiagramm zu Schlüpfversuch IV:
Ausschüttung von Cercarien in Lösungen mit verschiedenen Magnesiumkonzentrationen; 10 Schnecken in 50 ml Ionenlösung; es wurden jeweils die Cercarien aus einer Stichprobe von 10 ml ausgezählt. Die Diagramme zeigen die Ergebnisse verschiedener Versuchstage.
A.d. = Aqua dest.

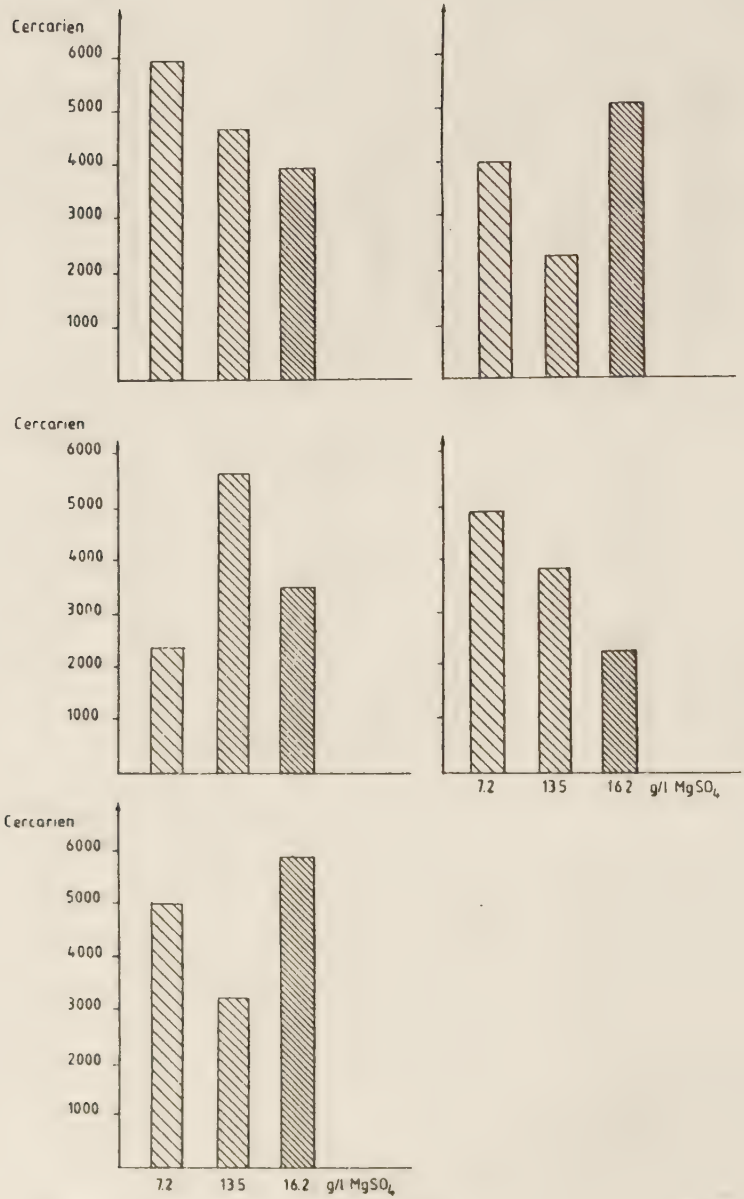


Abb. 10: Stabdiagramm zu Schlupfversuch IV:
Ausschüttung von Cercarien in Lösungen mit verschiedenen Magnesiumkonzentrationen; 10 Schnecken in 50 ml Ionenlösung; es wurden jeweils die Cercarien aus einer Stichprobe von 10 ml ausgezählt. Die Diagramme zeigen die Ergebnisse verschiedener Versuchstage.
A.d. = Aqua dest.

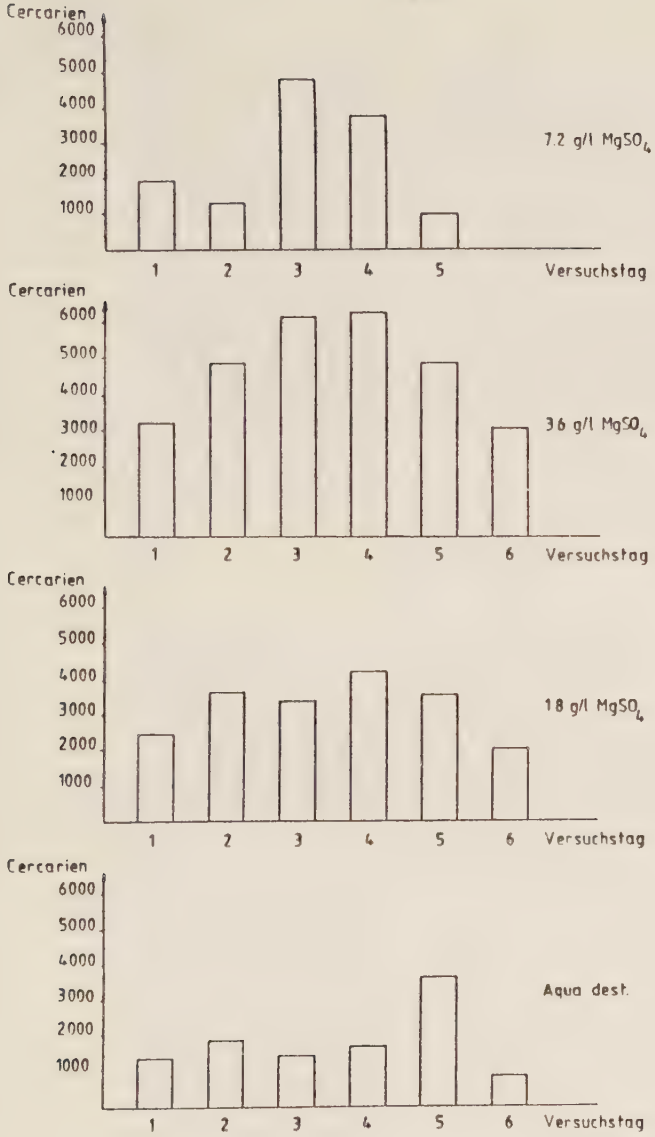


Abb. 11: Zahl, der in Lösungen mit verschiedenen Magnesiumsulfatkonzentrationen ausgeschütteten Cercarien im Vergleich zu dem Schlüpfergebnis in Aqua dest.. Aufgetragen sind jeweils die Ergebnisse einzelner Versuchstage.
In einer Lösung mit 3.6 g/l $MgSO_4$ sind signifikant mehr Cercarien geschlüpft als in Aqua dest..

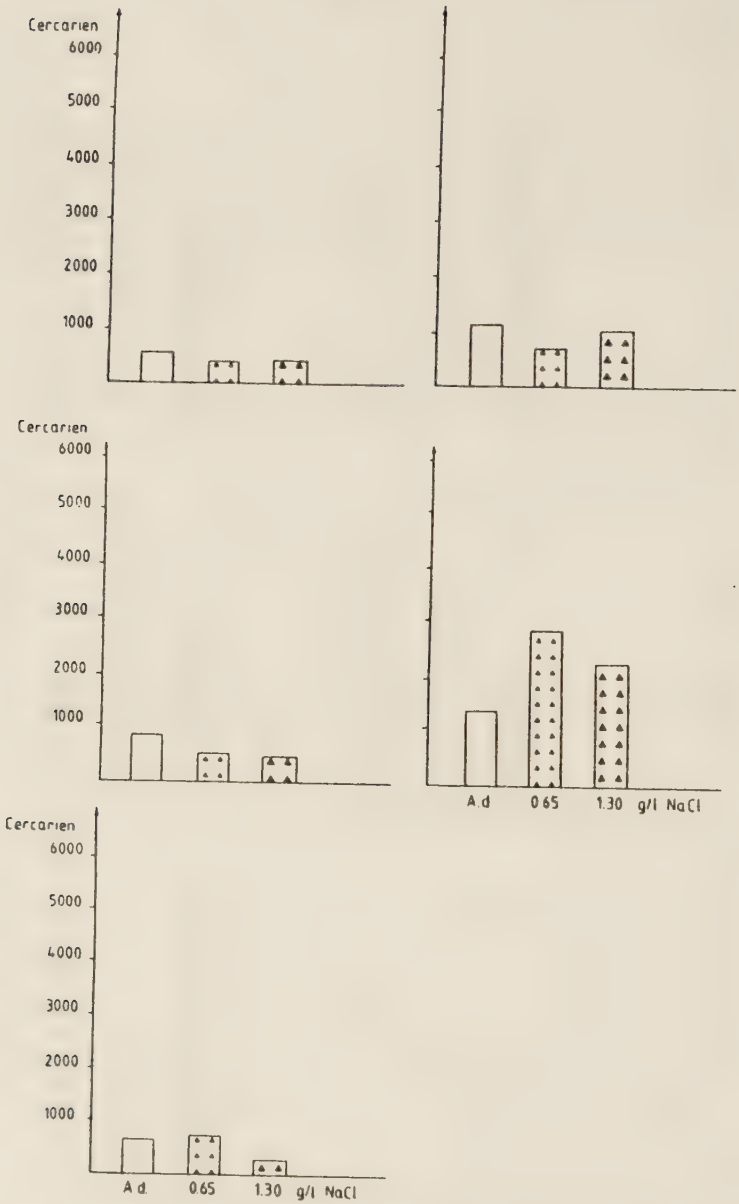


Abb. 12: Stabdiagramm zu Schlüpfversuch IV:
Ausschüttung von Cercarien in Lösungen mit verschiedenen Natriumkonzentrationen; 10 Schnecken in 50 ml Ionenlösung; es wurden jeweils die Cercarien aus einer Stichprobe von 10 ml ausgezählt. Die Diagramme zeigen die Ergebnisse verschiedener Versuchstage.
A.d. = Aqua dest.

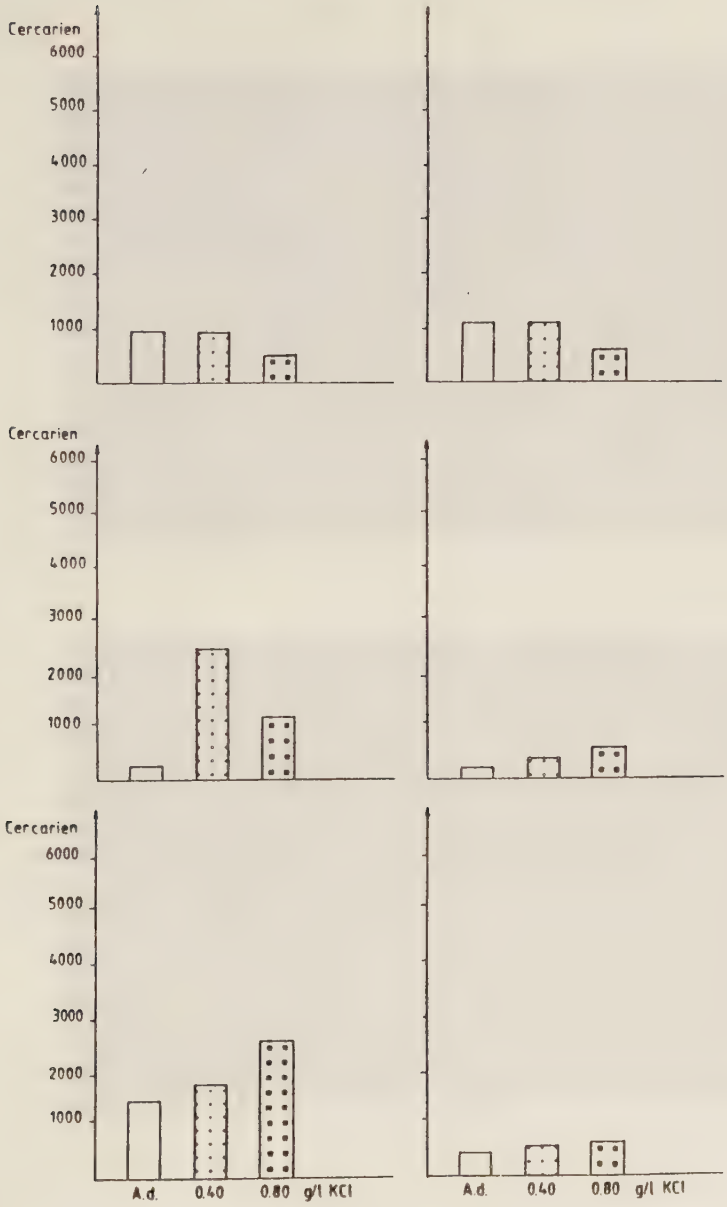


Abb. 13: Stabdiagramm zu Schlüpfversuch IV:
Ausschüttung von Cercarien in Lösungen mit verschiedenen Kaliumkonzentrationen; 10 Schnecken in 50 ml Ionenlösung; es wurden jeweils die Cercarien aus einer Stichprobe von 10 ml ausgezählt. Die Diagramme zeigen die Ergebnisse verschiedener Versuchstage.
A.d. = Aqua dest.

Beim Auszählen der toten Cercarien in der Zählkammer zeigte es sich, daß in den Magnesiumlösungen bei weniger Larven der Rumpf vom Schwanz getrennt war als in den anderen Ionenlösungen; in den höheren Mg-Konzentrationen nahm auch die Klumpenbildung der Cercarien ab, wie es Abb. 14 in typischer Weise veranschaulicht.

a

b

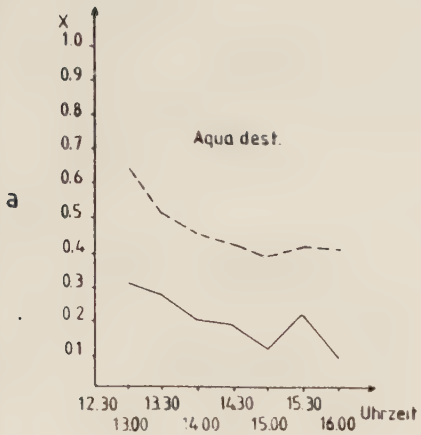
Abb. 14: Cercarien nach dem Abtöten
Abbildung 14a zeigt Larven, die in Aqua dest., Abbildung 14b Cercarien, die in 3.6 g/l $MgSO_4$ geschlüpft sind. Deutlich erkennt man die Klumpenbildung der toten Cercarien in Aqua dest. (14a), im Gegensatz zu den einzeln liegenden Cercarien in Magnesimsulfat (14b).

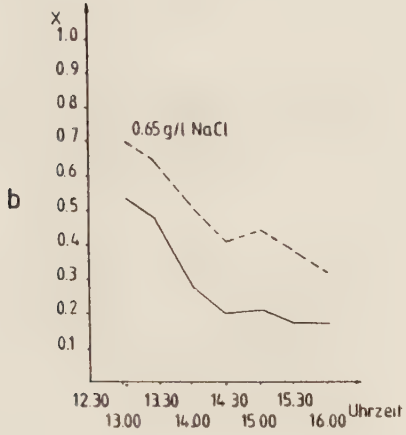
3.2.2. Aktivitätstests

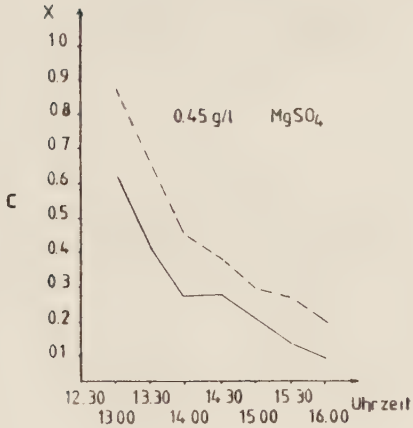
3.2.2.1. Vergleich: Spontanaktivität - Aktivität nach Reiz

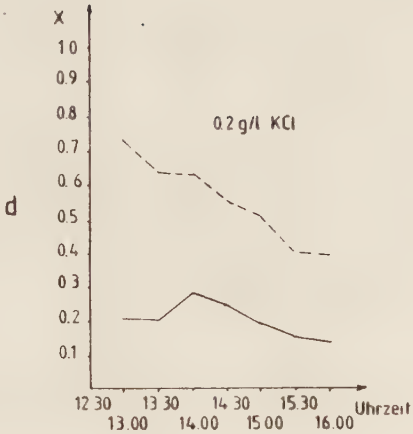
Betrachtet man ungestörte Cercarien in der Küvette, so stellt man fest, daß nur ein Teil aktiv, d.h. schwimmend oder schwebend zu sehen ist. Nach der Ausübung eines Dunkelreizes nimmt die Zahl der aktiven Larven zu. In Abbildung 15 ist dargestellt, wie groß die Aktivität der Cercarien in verschiedenen Ionenlösungen mit und ohne Dunkelreiz ist. Beim Vergleich dieser Kurven fällt auf:

1. Je höher die Spontanaktivität der Cercarien ist, desto weniger läßt sie sich durch Ausübung eines Dunkelreizes steigern.
2. Je höher die Aktivität zu Beginn des Versuches (erste Beobachtung um 13.00 Uhr) desto steiler fällt die Aktivitätskurve ab.
3. Magnesiumsulfat steigert die Spontanaktivität zu Beginn des Versuchs im Vergleich zu Aqua dest.; die Aktivität nach Dunkelreiz ist bei der letzten Beobachtung, um 16.00 Uhr, in der Magnesiumsulfatlösung deutlich geringer als in Aqua dest..
4. Die Spontanaktivität der Cercarien in Kaliumchlorid entspricht in etwa der in Aqua dest.. Nach einem Dunkelreiz ist die Aktivität in 0.20 g/l KCl bei der ersten Beobachtung größer, bei der letzten Beobachtung ist sie aber geringer als in Aqua dest..
5. Die Aktivität der Cercarien in 0.65 g/l NaCl ist ungefähr so groß wie in Aqua dest..









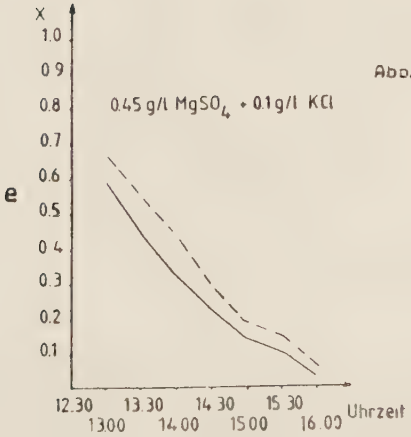


Abb. 15: Spontanaktivität (——) und Aktivität nach einem Dunkelreiz (----) von Cercarien, die in verschiedenen Lösungen gehalten wurden.
X = Anteil der schwimmenden und schwebenden Larven an der Gesamtzahl der im Versuch verwendeten Cercarien (150-180).

3.2.2.2. Vergleich der Spontanaktivität in unterschiedlichen Lösungen

Der Vergleich der Spontanaktivität von Cercarien in unterschiedlichen Ionenlösungen mit der Spontanaktivität in Aqua dest. (Abb. 16) zeigt folgendes:

1. Natriumchlorid (0.65 g/l) + Magnesiumsulfat (3.6 g/l) steigern die Spontanaktivität der Larven während des ganzen Versuchszeitraumes (Abb. 16a).
2. Von den untersuchten Magnesiumsulfatkonzentrationen (0.45 g/l, 1.8 g/l, 7.2 g/l) wirken 1.8 g/l $MgSO_4$ am stärksten anregend auf die Spontanaktivität (Abb. 16b, c).
3. Magnesiumsulfat + Glucose steigern sie nur während der ersten zwei Stunden (Abb. 16a).
4. Kaliumchlorid steigert die Spontanaktivität in einer Konzentration von 0.8 g/l KCl und in einer Kombination mit Magnesiumsulfat (0.1 g/l KCl + 0.45 g/l $MgSO_4$) (Abb. 16d, e).

Abb. 17a zeigt die dauerhafte Steigerung der Spontanaktivität in einer Lösung aus 0.65 g/l NaCl + 3.6 g/l $MgSO_4$ im Vergleich zu den Einzelkomponenten der Lösung, Abb. 17b im Vergleich zu 7.2 g/l $MgSO_4$. Abb. 17c zeigt die Spontanaktivität der Cercarien in Lösungen mit gleicher Osmolarität aber verschiedener Ionenzusammensetzung. Die Kurven fallen bis 14.30 Uhr fast gleich steil ab, danach bleibt die Spontanaktivität in NaCl auf dem erreichten Niveau, in KCl fällt sie fast bis Null, in $MgSO_4$ liegt sie dazwischen.

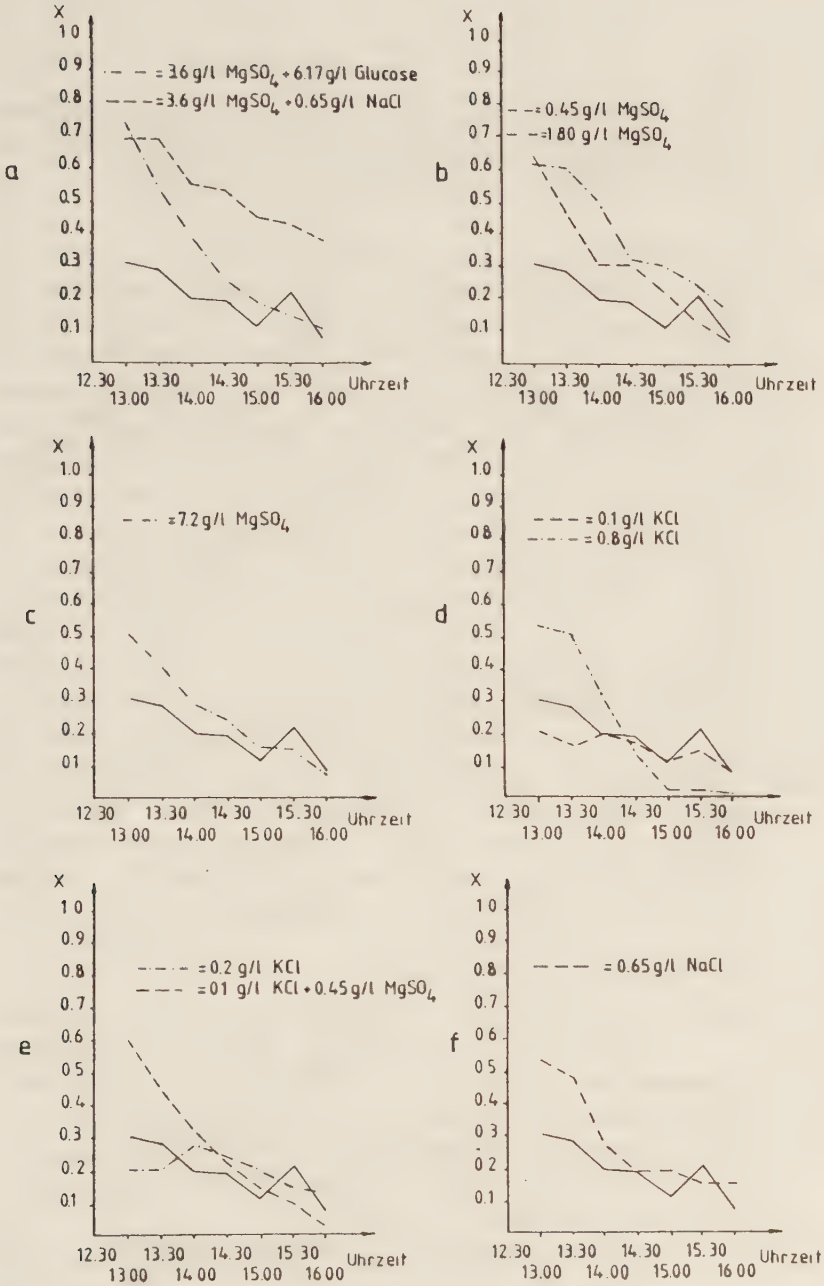


Abb. 16: Spontanaktivität von Cercarien in verschiedenen Lösungen und in Aqua dest. (——).
X = Anteil der schwimmenden und schwebenden Larven an der Gesamtzahl der im Versuch verwendeten Cercarien (150-180).

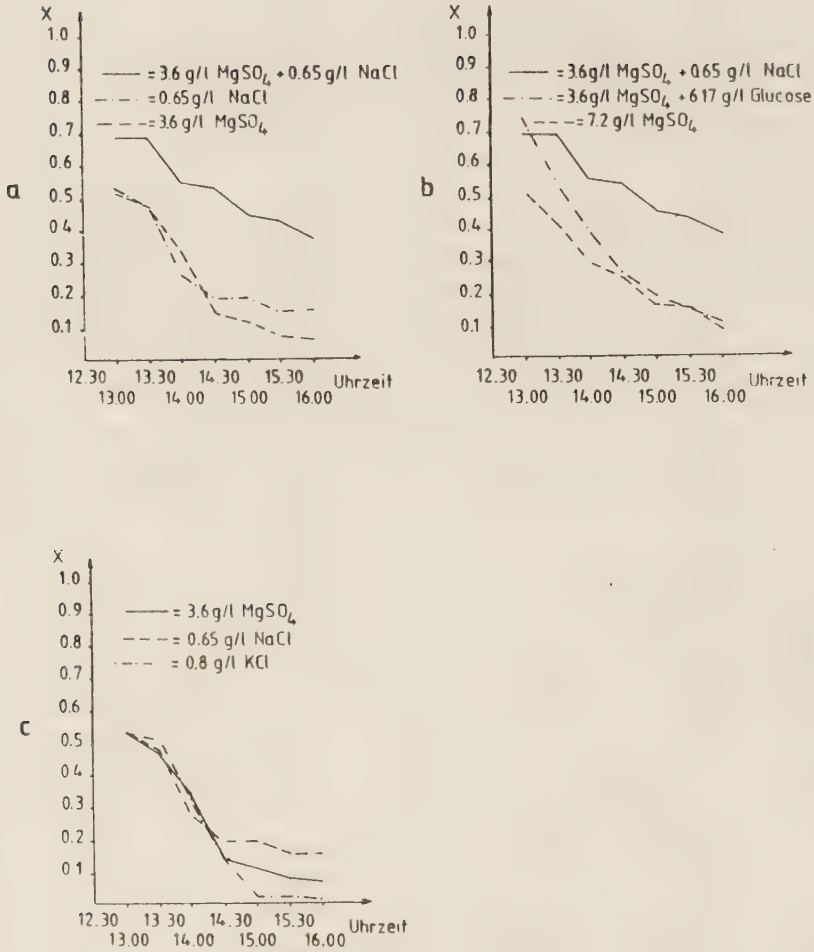


Abb. 17: Soontanaktivität von Cercarien in verschiedenen Lösungen.
X = Anteil der schwimmenden und schwebenden Larven an der Gesamtzahl der im Versuch verwendeten Cercarien (150-180).
17 b, c: Lösungen mit gleicher Osmolarität.

3.2.2.3. Vergleich der Aktivität von Cercarien nach Dunkelreiz in verschiedenen Ionenlösungen

Abbildung 18 zeigt die Aktivität von Cercarien in verschiedenen Ionenlösungen nach einem Dunkelreiz.
In Aqua dest. und 0.65 g/l NaCl war die Aktivität der Cercarien nach Dunkelreiz fast gleich.
Magnesiumsulfat in niedrigen Konzentrationen (0.45 g/l und 1.8 g/l) bewirkte zu Beginn des Versuches eine höhere Aktivität der Cercarien als Aqua dest., während sich bei der Verwendung von 7.2 g/l $MgSO_4$ die Aktivität im Vergleich zu Aqua dest. zunächst nicht veränderte. Nach 3 Stunden war in allen Magnesiumkonzentrationen die Aktivität nach Dunkelreiz geringer als in Aqua dest..
Die Kombination von Magnesium- und Natriumionen bewirkte eine ausgeprägte und über den Zeitraum des Versuchs andauernde Aktivitätssteigerung.
Kaliumchlorid in einer Konzentration von 0.10 g/l steigerte die Aktivität nach Dunkelreiz. In höheren Konzentrationen (0.20 u. 0.80 g/l KCl) verlief die Aktivität zunächst wie bei Aqua dest.. Eineinhalb Stunden nach Versuchsbeginn fiel sie gegenüber Aqua dest. stark ab.

Abb. 19a zeigt die Aktivität der Cercarien nach Dunkelreiz in einer Magnesiumsulfat- (3.6 g/l), in einer Natriumchloridlösung (0.65 g/l) und in einem Suspensionsmedium aus der Summe dieser beiden Konzentrationen (Mg + Na). Die Kombination bewirkte die größte Cercarienaktivität.

Die Cercarienaktivität in Lösungen gleicher Osmolarität ($MgSO_4$, NaCl, KCl) ist in Abb. 19b dargestellt. In der Magnesium- und in der Kaliumlösung

verlief die Aktivitätskurve etwa gleich. In der NaCl-Lösung fiel sie im Verlauf des Versuches nicht so steil ab.

Abb. 19c zeigt den Verlauf der Aktivität in Lösungen gleicher Osmomolarität und zwar in einer 7.2 g/l $MgSO_4$-Lösung und in Lösungen, in denen jeweils die Hälfte des $MgSO_4$ einmal durch 6.17 g/l Glucose und einmal durch 0.65 g/l NaCl ersetzt sind. Kombinationen bewirkten eine höhere Aktivität. Die Kombination mit NaCl verzögerte zusätzlich den Aktivitätsabfall deutlich.

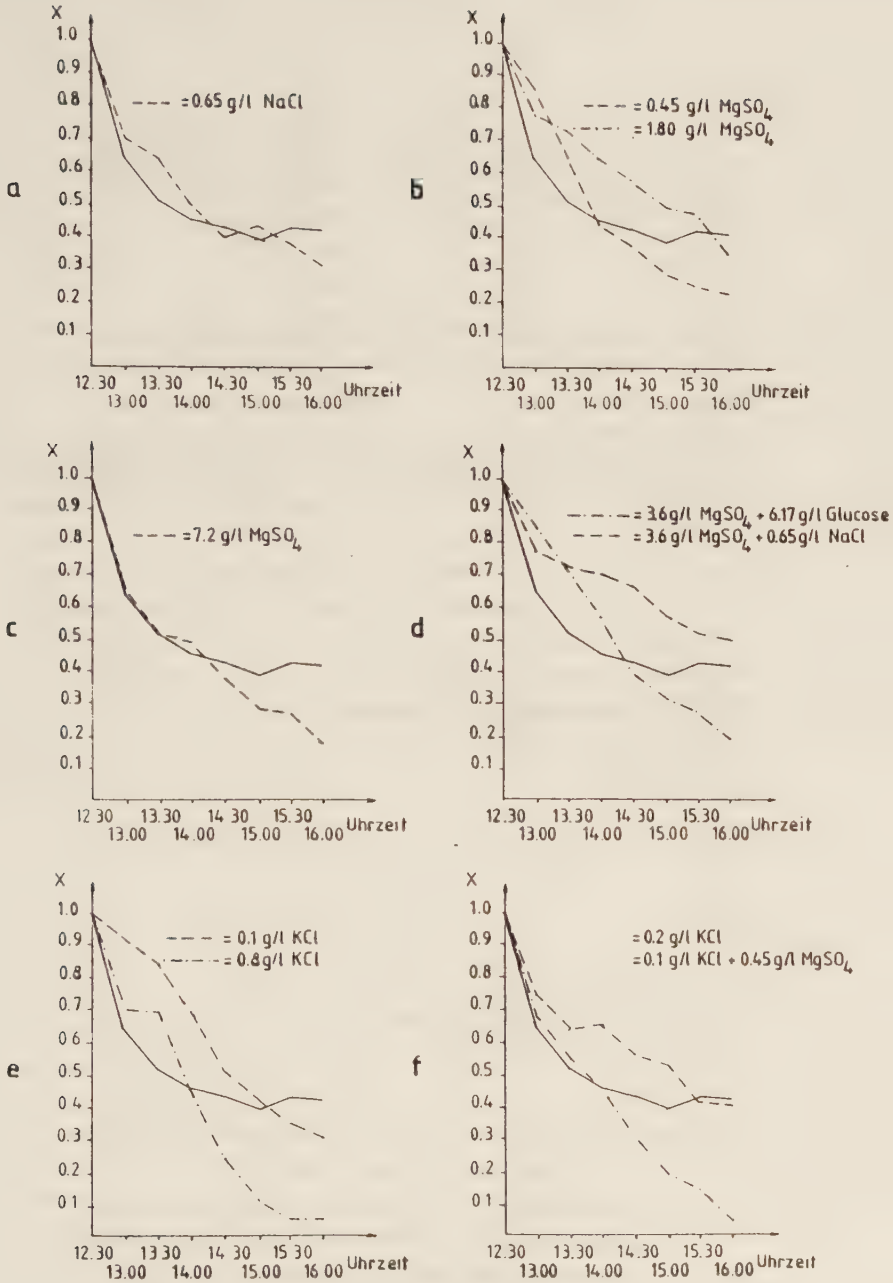


Abb. 18: Aktvität von Cercarien nach einem Dunkelreiz.
X = Anteil der schwimmenden und schwebenden Larven an der Gesamtzahl der im Versuch verwendeten Cercarien (150-180).
(——) = Aqua dest.

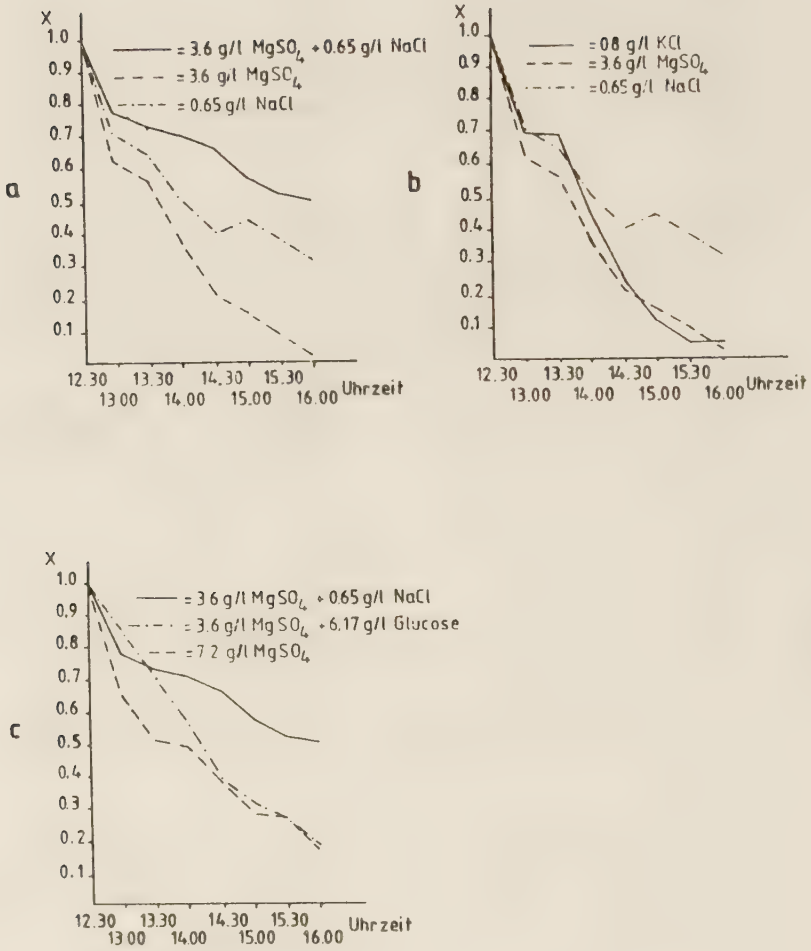


Abb. 19: Aktivität von Cercarien in verschiedenen Lösungen nach einem Dunkelreiz.
X = Anteil der schwimmenden und schwebenden Larven an der Gesamtzahl der in Versuch verwendeten Cercarien (150-180).
19 b, c: Lösungen mit gleicher Osmolarität.

3.2.3. Statistische Prüfung der Daten

Um die Kurven, die den Aktivitätsverlauf der Cercarien beschreiben, statistisch vergleichen zu können, wurde die Fläche unter der Aktivitätskurve eines jeden Versuchstages berechnet. Sodann wurde für jede geprüfte Ionenlösung der Durchschnitt aus den errechneten Flächenwerten gebildet und die Standardabweichung berechnet. Mittels des t-Testes wurde dann geprüft, ob zwischen den Größen der Flächen der verschiedenen Ionenlösungen signifikante Unterschiede bestehen.
In Tab. 4 a/b, finden sich die Kurvenpaare zwischen deren Flächen ein statistisch signifikanter Unterschied besteht. Es wurden sämtliche Kurvenkombinationen untersucht. In Abb. 20 sind die Flächen als Stabdiagramme dargestellt.

Tab. 4a: Kurvenpaare der Spontanaktivitätskurven, zwischen deren Flächen ein signifikanter Unterschied nach dem t-Test besteht ($\alpha = 0.05$).

Lösungen	Verhältnis der Flächenmaßzahlen $x_1 : x_2$
A.d. : 3.6 g/l $MgSO_4$ + 6.17 g/l Glucose	1.89 : 2.85
A.d. : 1.8 g/l $MgSO_4$	1.89 : 3.25
A.d. : 3.6 g/l $MgSO_4$ + 0.65 g/l NaCl	1.89 : 3.97
A.d. : 0.45 g/l $MgSO_4$	1.89 : 3.28
0.45 g/l $MgSO_4$: 3.6 g/l $MgSO_4$	3.28 : 2.35
: 7.2 g/l $MgSO_4$	3.28 : 2.43
: 3.6 g/l $MgSO_4$ + 6.17 g/l Glucose	3.28 : 2.85
: 3.6 g/l $MgSO_4$ + 0.65 g/l NaCl	3.28 : 3.97
: 0.45 g/l $MgSO_4$ + 0.10 g/l KCl	3.28 : 3.97
0.1 g/l KCl : 0.8 g/l KCl	1.64 : 2.04
3.6 g/l Mg : 0.8 g/l KCl	2.35 : 2.04
3.6 g/l $MgSO_4$ + 0.65 g/l NaCl : 3.6 g/l $MgSO_4$ + 6.17 Glucose	3.97 : 2.85
" : 7.2 g/l $MgSO_4$	3.97 : 2.43
3.6 g/l $MgSO_4$ + 6.17 g/l Glucose : 7.2 g/l $MgSO_4$	2.85 : 2.43
0.45 g/l $MgSO_4$: 0.10 g/l KCl	3.28 : 1.64

Tab. 4b: Kurvenpaare der Aktivität nach Dunkelreiz, zwischen deren Flächen ein signifikanter Unterschied nach dem t-Test besteht ($\alpha = 0.05$).

Lösungen		Verhältnis der Flächenmaßzahlen $X_1 : X_2$
A.d.	: 1.8 g/l $MgSO_4$	3.55 : 4.35
	: 0.80 g/l KCl	3.55 : 2.84
	: 0.20 g/l KCl	3.55 : 4.46
	: 3.6 g/l $MgSO_4$ + 0.65 g/l NaCl	3.55 : 4.72
	: 0.45 g/l $MgSO_4$ + 0.10 g/l KCl	3.55 : 2.73
0.80 g/l KCl	: 0.20 g/l KCl	2.84 : 4.46
	: 0.10 g/l KCl	2.84 : 4.10
0.20 g/l KCl	: 0.45 g/l $MgSO_4$ + 0.10 g/l KCl	4.46 : 2.73
3.6 g/l $MgSO_4$ + 0.65 g/l NaCl	: 3.6 g/l $MgSO_4$ + 6.17 g/l Glucose	4.72 : 3.72
3.6 g/l $MgSO_4$ + 0.65 g/l NaCl	: 7.2 g/l $MgSO_4$	4.72 : 3.20
0.45 g/l $MgSO_4$	: 3.6 g/l $MgSO_4$	3.49 : 2.95
	: 1.8 g/l $MgSO_4$	3.49 : 4.35
	: 3.6 g/l $MgSO_4$ + 0.65 g/l NaCl	3.49 : 4.72
	: 0.45 g/l $MgSO_4$ + 0.10 g/l KCl	3.49 : 2.73
	: 0.10 g/l KCl	3.49 : 4.10

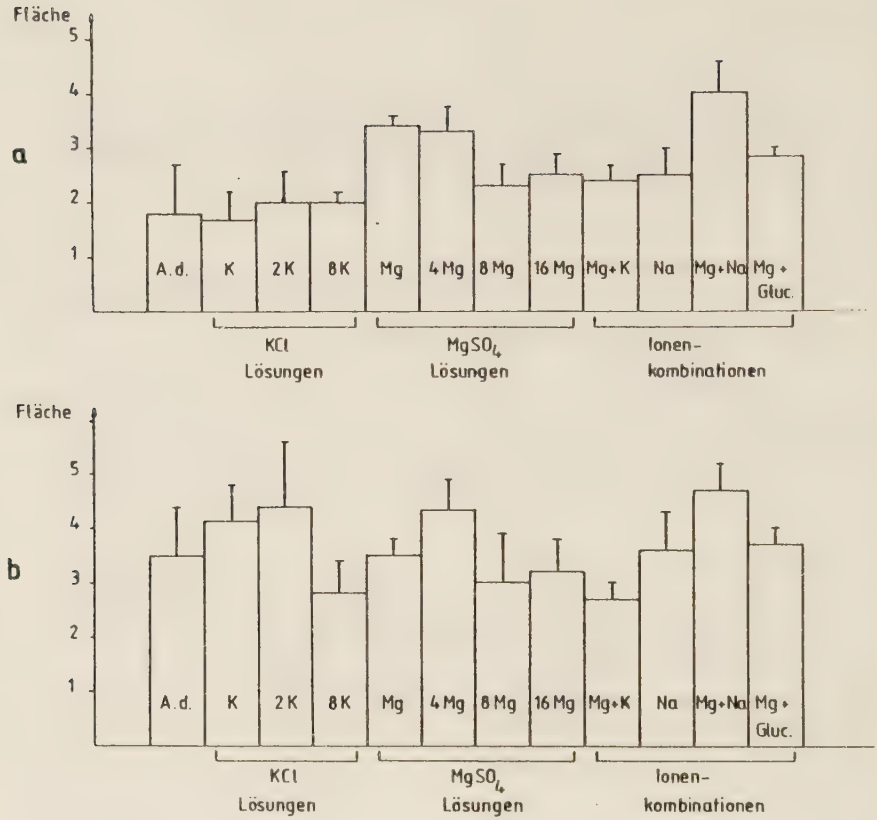


Abb. 20: Vergleich der Aktivitätskurven (Abb. 15 – 19).
Als Vergleichskriterium diente die Größe der Fläche unter den Aktivitätskurven. Die Säulen ergaben sich aus den Mittelwerten und Standardabweichungen der Flächen aus den einzelnen Versuchstagen für die jeweiligen Versuchslösungen.
Abb. 20a: Spontanaktivität, Abb. 20b: Aktivität nach einem Dunkelreiz
Die Größen der Flächen sind als dimensionslose Maßzahlen angegeben.

A. d. = Aqua dest.			
K = 0.1 g/l KCl		Mg = 0.45 g/l $MgSO_4$	
2 K = 0.2 g/l KCl		4 Mg = 1.80 g/l $MgSO_4$	
8 K = 0.8 g/l KCl		8 Mg = 3.60 g/l $MgSO_4$	
		16 Mg = 7.20 g/l $MgSO_4$	
Mg + K	= 0.45 g/l $MgSO_4$ + 0.1 g/l KCl		
Na	= 0.65 g/l NaCl		
Mg + Na	= 3.60 g/l $MgSO_4$ + 0.65 g/l NaCl		
Mg + Gluc.	= 3.60 g/l $MgSO_4$ + 6.17 g/l Glucose		

4. Diskussion

4.1. Schlüpfversuche

4.1.1. Methodik

Die in den Schlüpfversuchen I-II verwendete Methode (3 Schnecken, 20 ml Lösung, alle Cercarien auszählen) erwies sich als nicht geeignet, etwaige Einflüsse der untersuchten Ionenlösungen auf die Anzahl der schlüpfenden Cercarien festzustellen. Es zeigte sich, daß die individuellen Schwankungen der Cercarienausschüttung zwischen den einzelnen Schnecken zu groß waren, so daß sich diese bei der Verwendung von nur 3 Schnecken pro Lösung zu sehr auswirkten.
Die Gründe für diese starken individuellen Schwankungen sind in den Unterschieden zwischen den einzelnen Schnecke zu suchen: Futteraufnahme, allgemeine Abwehrkraft, Zahl der tatsächlich eingedrungenen Miracidien, Zahl der in Sporocysten umgewandelten Miracidien spielen dabei eine Rolle. Andere Faktoren, wie Miracidienzahl (15 - 20), Zeitpunkt des Schlüpfversuches post infectionem etc. waren bei allen Schnecken gleich.
Ein Faktor, der das Zählergebnis der Schlüpfversuche verfälschte, war das Abtöten der Larven im Schlüpfgefäß. Die abgetöteten Larven sanken sofort zu Boden und blieben teilweise dort haften, so daß beim Übergießen in die Zählkammer ein Rest dort zurückblieb, der nicht erfaßt wurde.
Wie aus Kap. 3.1. hervorgeht, erwies es sich als gerechtfertigt, 10 Schnecken in 50 ml Versuchslösung anzusetzen und nachdem die Cercarien aus den Schnecken geschlüpft sind, Stichproben von jeweils 10 ml zu entnehmen und auszuzählen. Wurden die Bechergläser während der Entnahme gut geschüttelt, so hielten sich

die Unterschiede zwischen den Stichproben in engen Grenzen (Abb. 6). Da die Cercarien erst in der Zählkammer abgetötet wurden, gab es auch keine Fehler infolge festhaftender Larven mehr.

Die Wahl der Tageszeit für die Schlüpfansätze stützt sich auf Beobachtungen, die schon Giovannola (1936) machte und die in der Literatur immer wieder vermerkt sind. Die Ausschüttung der Cercarien aus der Schnecke erfolgt nicht gleichmäßig, sondern unterliegt einer circadianen Rhythmik. Disko (1974) untersuchte dies genauer und stellte fest, daß bei einem Lichttag von 12 Std. die maximale Cercarienausschüttung 4-6 Std. nach Belichtungsbeginn liegt (10.00 und 12.00 Uhr). Um diesem Rhythmus gerecht zu werden, der sich auch auf die Aktivität der Cercarien auswirken könnte, wurden die Schlüpfversuche und auch das Cercarienschwärmen für die Aktivitätsuntersuchungen täglich zu dieser Zeit angesetzt.

Die Standardisierung der Schnecken erfolgte nach der Größe, da Größe und Alter gut miteinander korreliert sind. Es wurden nur Schnecken mit einem Durchmesser von ca. 10 mm verwendet. Der Auswahl der Ionenlösungen lag eine Arbeit Chernins (1963) zugrunde. Er verwendete eine Lösung verschiedener Ionen und Zucker ("balanced salt solution" - BSS: NaCl 2.8 g/l; KCl 0.15 g/l; Na_2HPO_4 0.07 g/l; $MgSO_4 \times 7\ H_2O$ 0.45 g/l) zur Herstellung einer physiologischen Nährlösung für in vitro Versuche an Herzen von <u>Australorbis glabratus</u>. Die Salze KCl und $MgSO_4$ wurden in der vorliegenden Arbeit als Einzelsubstanzen in den Konzentrationen benutzt, in denen sie auch Chernin in seiner BSS verwendete (entspricht den Konzentrationen in der Schneckenhämolymphe). Je nach Wirkung wurden auch Vielfache dieser Ionenkonzentrationen getestet. Zum besseren Vergleich wurde NaCl in der gleichen Konzentration wie KCl verwendet.

Der pH-Wert der Lösungen lag zwischen 5.6 und 6.2. Kendall und McCullough (1951) stellten fest, daß in einem Bereich von 5.2 - 8.5 das pH keinen Einfluß auf das Schlüpfergebnis hat.
Bei der statistischen Auswertung der Versuche war zu beachten, daß jeweils nur die Ergebnisse eines Versuchstages miteinander vergleichbar waren. Das Verhältnis der Cercarienzahlen der Lösungen Aqua dest. : 1.8 g/l $MgSO_4$: 3.6 g/l $MgSO_4$ zueinander war zwar jeden Tag gleich, die absoluten Zahlen unterschieden sich jedoch von Tag zu Tag beträchtlich.

Beispiel:	Aqua dest.	1.8 g/l	3.6 g/l $MgSO_4$	
14.6.85	1872	3594	4879	geschlüpfte Cercarien
19.6.85	1724	4182	6364	
28.6.85	858	1980	3020	

Es wurde davon ausgegangen, daß die Wirksamkeit eines Reizes unter anderem auch davon abhängt, wie groß die Differenz zum Ausgangszustand ist. Für die Schnecken bestand die Ausgangssituation in der Zusammensetzung des Aquarienwassers, in welchem sie sich befanden. Schwankungen dieser Wasserzusammensetzung waren versuchstechnisch nicht ganz zu vermeiden (Schneckenfutter, Exkremente). Kamen die Schnecken vom Aquarium in die Versuchslösung, so bildeten sowohl der osmotische Unterschied als auch die unterschiedliche Ionenzusammensetzung Reize für die Tiere, die das Cercarienschlüpfen beeinflußten. Nur für die Schnecken desselben Versuchstages war die Ausgangssituation, nämlich die Zusammensetzung des Aquarienwassers und damit auch der Reizunterschied zur jeweiligen Versuchslösung gleich.
Aus diesem Grunde wurde zur statistischen Auswertung der Friedman-Test für voneinander abhängige

Stichproben, deren Verteilung nicht bestimmt ist, gewählt (Ramm und Hofmann, 1982).

4.1.2. Ergebnisse

Bisherige Untersuchungen, über die Beeinflussung der Cercarienausschüttung von Mollusken durch Umweltfaktoren, beschränkten sich hauptsächlich auf den Einfluß der Faktoren Licht und Temperatur (Cort, 1922; Giovannola, 1936; Gumble et al., 1957).
Rees (1948) und Kendall und McCullough (1951) bezogen auch die Qualität des Wassers mit ein. Rees arbeitete mit Cercaria purpurea, einem Larvenstadium von Parorchis acanthus (Parasit der Heringsmöve), das sich in der Schnecke Nucella lapilus entwickelt. Es handelt sich also um eine Cercarie, die im Salzwasser lebt. Rees fand, daß bei Verdünnung des Salzwassers die Zahl der Cercarien abnahm Die Konzentration des verwendeten Meerwassers war 35.05 g/l und damit etwa die 20-fache Konzentration der in diesen Versuchen verwendeten NaCl-Lösung. Schon eine Verdünnung um 1/8 auf 30.66 g/l läßt bei Rees die Cercarienzahl um die Hälfte zurückgehen. Sie verwendete jedoch immer die vier selben Schnecken, die sie jeweils 24 Stunden in einer Probe verdünnten Meerwassers hielt. Bei einer Erhöhung der Salzkonzentration auf 43.8 g/l kam die Cercarienproduktion zum Erliegen.
Ist Cercaria purpurea empfindlicher als Cercarien von Schistosoma mansoni?
Die die durchgeführten Versuche ergaben bei der Verwendung von Aqua dest., 0.32 g/l NaCl und 0.65 g/l NaCl keine Unterschiede in der Cercarienzahl, auch die Schnecken überstanden den Versuch gut, sie befanden sich allerdings nur 2 1/2 h in der Versuchslösung. Zwei Möglichkeiten der Erklärung dieser Empfindlichkeitsunterschiede zwichen Salz- und Süßwasserschnecken

bieten sich an:

1. Von der Schnecke ausgehend:

Die Schnecke betreffend sind die Verhältnisse hier nicht ganz abzuklären, da die Zeitdauer der Versuche zu unterschiedlich ist. Es ist jedoch wahrscheinlich, daß die osmotische Toleranz der Mollusken für die Cercarienausscheidung in unterschiedlichen Medien eine Rolle spielt.

Marine Mollusken sind poikilosmotische Tiere, in diesem Fall auch euryhalin, wie auch aus dem Versuch von Rees (1948) hervorgeht (die 4 Schnecken eines Versuchsdurchganges starben bei 13.1 g/l Salzkonzentration nach 12 h ab, es wurden während des Versuches keine Cercarien ausgeschieden!), so daß die Beeinträchtigung der marinen Schnecken hier sicher eine große Rolle spielt.

Biomphalaria glabrata als Süßwasserschnecke besitzt eine sehr niedrige Ionenkonzentration in der Körperflüssigkeit (99 mosmol = 3.5 g/l). Auf diese Weise wird der Energieverbrauch für die Osmo- und Ionenregulation, der bei ihr hauptsächlich für die Wasserausscheidung im hypotonen Medium aufgewendet wird, gering gehalten. Bei dieser Arbeit zeigte sich jedoch, daß diese Süßwasserschnecken durchaus in der Lage sind, kurzzeitig hohe Ionenkonzentrationen auszuhalten.

Donnelly et al. (1983) machten Salztoleranzversuche mit Bulinus africanus (Zwischenwirt für S. mattheei und S. haematobium) und stellten fest, daß bis zu einer Salzkonzentration von 3.5 ‰ (isoosmotischer Punkt zur Hämolymphe) die Schnecken zur hyperosmotischen Osmoregulation uneingeschränkt fähig waren. Höhere Konzentrationen verursachten eine Hypotonie der Körperflüssigkeit gegenüber der Außenwelt und führten zu Ioneneinstrom und Dehydratation. Donnelly et al. untersuchten ihre Schnecken über einen Zeitraum von 32 Tagen. Sie gaben an, daß in einer Salzkonzentration von) 8.75 ‰ die Schnecken innerhalb von 24 Stunden

starben.

2. Von der Cercarie ausgehend:

Es sollte untersucht werden, ob Cercarien der osmotische Unterschied zwischen der Schneckenhämolymphe (99 mosmol) und Aqua dest. als Anreiz dient, die Schnecke zu verlassen, ob also die Cercarienzahl in Aqua dest. bedeutend höher wäre als in 0.32 g/l NaCl und 0.65 g/l NaCl. Diese Annahme bestätigte sich nicht (vgl. Abb. 12). Es fanden sich keine deutlichen Unterschiede in der Cercarienausbeute zwischen den drei Lösungen. Dieses Ergebnis war ähnlich bei der Verwendung von Aqua dest., 0.4 g/l KCl und 0.8 g/l KCl (= 4- und 8-fache Konzentration von Kalium in der Schneckenhämolymphe).

Hingegen ergab sich bei den Schlüpfversuchen mit Aqua dest., 1.8 g/l und 3.6 g/l Magnesiumsulfat (Abb. 8) ein völlig anderes Bild. Die Anzahl der geschlüpften Cercarien war in 3.6 g/l Magnesiumsulfat statistisch signifikant höher (α = 0.05) als in Aqua dest.. In 1.8 g/l Magnesiumsulfat waren die Zahlen zwar auch höher als in Aqua dest., jedoch ließ sich der Unterschied statistisch nicht sichern. Eine weitere Steigerung der Magnesiumionenkonzentration auf 7.2 g/l, 13.5 g/l und 16.2 g/l Magnesiumsulfat brachte keine deutliche Erhöhung der Cercarienzahlen im Vergleich zu 3.6 g/l $MgSO_4$.

Magnesiumionen hatten aber noch weitere Wirkungen auf Cercarien von *Schistosoma mansoni*. Wie die Aktivitätstests (Kapitel 3.2) zeigen, steigert Magnesium in Konzentrationen von 0.45 g/l und 1.8 g/l die Schwimmaktivität der Larven, sowohl die spontane als auch die nach Dunkelreiz. Jedoch fallen die Aktivitätskurven ziemlich steil ab, was sich dadurch erklärt, daß durch die gesteigerte Schwimmaktivität die Energiereserven schneller verbraucht werden (Abb. 16b, 18b). Die Cercarien reagierten in den Aktivitätstests empfindlicher

auf Milieuveränderungen durch Magnesiumionen als in den Schlüpfversuchen, das heißt, daß in einer Lösung von 7.2 g/l Magnesiumsulfat zwar ähnlich viele Cercarien schlüpften wie in 3.6 g/l, daß aber die Aktivität schon in einer 1.8 g/l-Lösung sowohl ohne als auch mit Dunkelreiz über die ganze Zeitdauer des Versuchs am höchsten war. Die Spontanaktivität von Cercarien ist in einer 7.2 g/l Magnesiumsulfatlösung höher als in Aqua dest., jedoch niedriger als in 0.45 g/l, 1.8 g/l und 3.6 g/l Magnesiumsulfat (Abb. 16b, c,). Im Gegensatz dazu kann bei einer Steigerung der Magnesiumsulfatkonzentrationen bis auf das 36-fache in den Schlüpfversuchen kein Rückgang der Cercarienzahlen festgestellt werden.

Magnesiumionen wirken auf Cercarien von Schistosoma mansoni stimulierend. Auch in der Literatur finden sich dafür einige Hinweise.
In einer kurzen Mitteilung berichtet Becker (1976) über eine verlängerte Schwimmfähigkeit von Cercarien in BSS ("balanced salt solution") gegenüber Aqua dest.. Auch er hatte in seiner BSS Natrium- gegen Magnesiumionen ausgetauscht. Die Schwimmfähigkeit in dieser Lösung war ebenso wie in der Original-BSS deutlich verlängert.
Lewert et al. (1966) machten Untersuchungen über den Einfluß von Magnesiumionen auf den Infektionserfolg von Schistosoma mansoni Cercarien. Sie fanden heraus, daß Cercarien in magnesiumhaltiger Lösung in wesentlich höherer Zahl (129 %) in die Maus eindrangen als in Aqua dest. (100 %). Sie führten dies darauf zurück, daß Mg-Ionen als Cofaktor der proteolytisch wirkenden Enzyme der Praeacetabulardrüsen fungierten. Sie machten allerdings keine Angaben, welches Magnesiumsalz sie verwendeten; sie beschränkten sich darauf, mitzuteilen, daß ihre Lösung 10 Mol Magnesiumionen enthielt. Die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Konzentrationen

beliefen sich auf das 7.2-fache.
Krakower (1940) untersuchte unter anderem die Wirkung verschiedener chemischer Stoffe auf die Überlebensfähigkeit von Cercarien von Schistosoma mansoni. Dabei prüfte er auch $MgCl_2$ in steigenden Konzentrationen. Er beobachtete die Cercarien in Teströhrchen, die mit 10 - 15 ml Flüssigkeit (Testmedium oder Regenwasser als Kontrollansatz) gefüllt waren, über mehrere Stunden. Nach Verwendung von 0.1 % $MgCl_2$ bis 1.2 % $MgCl_2$ stellt er keine Veränderung in der Lebensdauer im Vergleich zu den Kontrolltieren fest. Eine Konzentration von 1.3 % $MgCl_2$ bewirkte, wie er schreibt, daß die Cercarien "auf Dauer auf den Boden sinken" und dort noch 4 Stunden aktiv bleiben. 2 % $MgCl_2$ ließen die Larven "schnell" zu Boden sinken, wo sie sofort bewegungslos sind; lediglich die Wimperflammzellen waren noch einige Stunden aktiv. Angaben zur Methodik (Belichtung, Tageszeit der Untersuchungen, Zahl der untersuchten Larven, Abstände und Dauer der Beobachtung) fehlen. Die Konzentration, bei der in diesen Versuchen die maximale Aktivität festgestellt wurde, hatte bei seinen Untersucheungen keine Auswirkungen auf Cercarien. Erst ab der ca. 10-fachen Konzentration (= 1.3 % $MgCl_2$) stellte er verminderte Überlebensfähigkeit fest, wobei er jedoch etwaige Aktivitätssteigerungen bei niedrigeren Konzentrationen nicht bemerkte. Diese Aktivitätssteigerungen sind aber wahrscheinlich verantwortlich für die kürzere Lebensdauer, da die begrenzten Energievorräte schneller aufgebraucht werden.

Betrachtet man Cercarien, die sich in Aqua dest. befinden, nach dem Abtöten, z.B. mit Lugolscher Lösung, so findet man bei den meisten Rumpf und Schwanz getrennt. Bei den Magnesiumsulfatkonzentrationen, die in dieser Arbeit untersucht wurden, wurde dieser Effekt seltener beobachtet. Krakower (1940) machte die gleiche Beob-

achtung nach der Verwendung von Magnesiumchlorid. Er folgerte daraus, daß Magnesiumchlorid auf den Prozeß der Autolyse einwirkte.
Das Phänomen könnte darauf zurückzuführen sein, daß Magnesiumionen eine Rolle in der Zelladhäsion spielen. Unter physiologischen Bedingungen sind Zelloberflächen aufgrund der dort sitzenden Ionengruppen negativ geladen. Positive, bivalente Ionen, wie die von Kalzium oder Magnesium, setzen die elektrostatischen, abstoßenden Kräfte zwischen den Zellen herab (Curtis, 1966, zit. n. Aikawa, 1981). Bei noch höheren Magnesiumsulfatkonzentrationen wurde beobachtet, daß auch die Neigung der Cercarien zur Klumpenbildung abnahm (Abb. 13, 14). Dabei könnte die größere Anzahl der an der Cercarienoberfläche sitzenden Magnesiumionen als "Abstossungshülle" eine Rolle spielen.
Untersuchungen an phototaktischen Algen (Halldal, 1959) haben in Zusammenhang mit Magnesiumionen Ergebnisse erbracht. Es wurde die Beweglichkeit und phototaktische Aktivität der einzelligen Alge <u>Platymonas subcordiformis</u> untersucht. Halldal fand, daß unterhalb einer Konzentration von 0.01 Mol Magnesiumionen (= 1.4-faches der hier verwendeten 1.8 g/l $MgSO_4$-Lösung) die Algen bewegungslos waren. Die positive phototaktische Aktivität hatte ihr Optimum bei 0.1 - 0.15 M Magnesium. Ab Konzentrationen von 1.75 M Magnesium waren die Zellen bewegungslos. Halldal verwendete Magnesiumchlorid, nach 30 min. sank die Beweglichkeit bei allen Magnesiumkonzentrationen stark ab. In Anwesenheit von 0.01 Mol KCl hielt sie mehrere Tage an. Das Verhältnis von Kalzium, Magnesium und Kalium zueinander war verantwortlich für die Art der phototaktischen Bewegung: Positiv oder negativ. Halldal schloß aus seinen Ergebnissen, daß, um phototaktisch reagieren zu können, in den Zellen ATP-Angebot und -Verbrauch im Gleichgewicht sein müssen und daß diese Balance durch

das Verhältnis K : Mg : Ca gesteuert wird. Feinere Steuermechanismen sind dann zum Beispiel das Licht und die Phosphorylierung.

Die Aufgaben von Magnesium in der Zelle sind vielfältig. Aufgrund seines Atombaus ist das kleine zweiwertige Magnesiumion in der Lage, Komplexe zu bilden, die nicht sehr stabil sind und daher leicht Reaktionen eingehen. Wichtigster Partner ist hierbei, neben vielen Enzymen, das ATP. Bei der oxidativen Phosphorylierung übernimmt Magnesium einen entscheidenden Part als Cofaktor.
Ist an einer Reaktion ATP beteiligt, so bildet es mit dem jeweiligen Partner und Magnesium einen Komplex. Mittels der Aktivierung von ATP ist Magnesium auch an den aktiven Transportmechanismen von Natrium und Kalium durch die Zellmembran beteiligt. In der großen Zahl von Reaktionen, die keine Redoxreaktionen sind, sondern in denen Gruppenübergänge stattfinden, fungiert Magnesium gewöhnlich als Cofaktor zur Herabsetzung der Aktivierungsenergie. Magnesium ist auch wichtig für die Aggregation von Ribosomen und für die Aufrechterhaltung von deren Sekundärstruktur (Mazia, 1954).
Auch der Energiestoffwechsel der Herzmuskelfasern des Säugetierherzens ist abhängig vom Magnesium. Herzversagen kann gelegentlich auf Magnesiummangel zurückzuführen sein, da Magnesium für die oxidative Phosphorylierung, also für das Bereitstellen von ATP zur Aufrechterhaltung der Muskelkontraktionskraft, notwendig ist. Wegen der Abhängigkeit der Na/K-ATPase von Magnesium ist es auch essentiell für den geregelten Ablauf der Erregungsleitung an der Zelloberfläche. Ein Magnesiummangel führt zu einem intrazellulären Kaliumverlust, dadurch wird das Ruhepotential weniger negativ und die Erregbarkeit nimmt zu.

Betrachtet man in diesen Zusammenhängen die Wirkung von Magnesiumionen auf Cercarien von Schistosoma mansoni, so ist anzunehmen, daß die stimulierende Wirkung auf die Aktivität der Larven darauf beruht, daß, infolge der höheren Verfügbarkeit von Magnesiumionen, auch mehr ATP bereitgestellt wird. Dieses wird sofort für eine Steigerung der Schwimmaktivität verbraucht, ohne Rücksicht auf die begrenzten, nicht ergänzbaren Energievorräte. Ontogenetisch gesehen wäre es ein durchaus sinnvoller Vorgang, da die Schwimmbewegungen dazu dienen, möglichst rasch einen Wirt zu finden, was die Aufgabe der Cercarie im Lebenszyklus von Schistosoma mansoni ist. Mit zunehmender Schwimmaktivität steigt auch die Wahrscheinlichkeit der Wirtsfindung. Eine Steigerung läßt sich aber nur in engen Grenzen erzielen. Nimmt die Magnesiumkonzentration weiter zu, so kann auch bei der ersten Beobachtung (nach 30 min.) keine Aktivitätssteigerung festgestellt werden. Im Gegenteil, sie geht sogar wieder zurück. Die Ursachen dafür könnten eine Sättigung der Enzyme der oxidativen Phosphorylierung mit Magnesium und eine etwaige Toxizität von Magnesiumsulfat in höherer Konzentration sein. Bei der Wirkung von Magnesium auf das Schlüpfverhalten der Cercarien aus Biomphalaria glabrata ist denkbar, daß die Ionen hier in erster Linie auf die Schnecke einwirken.

Erasmus (1972) zeigte Zusammenhänge auf, wie verschiedene Umweltfaktoren über die Schnecke auf die Cercarien einwirken, ihre Aktivität erhöhen und damit ihr Ausschlüpfen erleichtern können. Er nimmt an, daß höhere Wassertemperaturen den Stoffwechsel der Cercarien anregen. Ebenso nimmt er an, daß eine Fütterung der Schnecken nach einer längeren Hungerperiode einen Anstieg der Metaboliten in der Hämolymphe verursacht, wodurch den Cercarien mehr Nahrung zur Verfügung stünde und somit ihre Stoffwechselaktivität stiege.

Magnesiumionen könnten also nicht nur den Stoffwechsel der Cercarien direkt anregen, sondern in ähnlicher Weise auch auf die Schnecken einwirken und über deren gesteigerten Energieumsatz zu vermehrter Cercarienausschüttung führen.

4.2. Aktivitätsuntersuchungen

4.2.1. Methodik

Der Versuchsaufbau bei den Aktivitätsuntersuchungen erfolgte in modifizierter Form nach den Angaben von Anderson und Whitfield (1975), Whitfield et al. (1977) und Anderson et al. (1982). Es wurde die Abhängigkeit der Cercarienaktivität vom Suspensionsmedium betrachtet. Die Cercarienpopulation konnte zum Zeitpunkt des Beobachtungsbeginns zwischen 2.5 Stunden und wenigen Minuten alt sein. Saladin (1979) untersuchte bei Cercarien von Schistosoma mansoni die Abhängigkeit der Aktivitätsphasenfrequenz vom Alter und fand, daß sie sich etwa 4 - 5 Stunden lang nach dem Schlüpfen nicht änderte.
Verschiedene Autoren (Asch und Drane, 1971; Anderson und Whitfield, 1975; Anderson et al., 1982) versuchten die Absterberate von Cercarien (Kriterium war auch hier die Beweglichkeit) mit mathematischen Modellen zu beschreiben. Im Zusammenhang mit der Fragestellung dieser Arbeit erschien uns dies als nicht sinnvoll, da es keine Steigerung der Aussagekraft der Resultate gebracht hätte und interessante Einzelheiten des Kurvenverlaufs dadurch verloren gegangen wären. Um die einzelnen Kurven im Überblick miteinander vergleichen zu können, wurde die Fläche unter den Kurven für jeden Tag und daraus Mittelwert und Standardabweichung berechnet (Abb. 20).

4.2.2. Ergebnisse

Die Diagramme, in denen Spontanaktivität und Aktivität nach Dunkelreiz in einer Ionenlösung vergleichend aufgetragen sind (Abb. 15) zeigen folgende Besonderheiten: Die jeweiligen Kurvenpaare verlaufen ungefähr gleichläufig wobei jedoch die Abstände zwischen den Kurven mit und ohne Dunkelreiz je nach Lösung unterschiedlich sind. Der Abstand ist bei Aqua dest. am größten (25 - 30 %), dann folgen Natrium und Magnesium, der geringste Abstand, etwa 5 - 10 %, findet sich bei der Kombination von Kalium und Magnesium. Eine Ausnahme macht die Aktivität in einer 0.2 g/l Kaliumchloridlösung. Hier bleibt die Spontanaktivität während der gesamten Versuchsdauer bei ca. 20 %, ähnlich Aqua dest., während die Aktivität nach Dunkelreiz von anfangs über 90 % auf 35 % abfällt.
Der Abstand der gleichläufigen Kurven ist ein Maß dafür, wieviel Energiereserven in den Cercarien noch mobilisierbar sind. In Aqua dest. sind diese Reserven ziemlich groß, da die Spontanaktivität recht niedrig ist, in Magnesium + Kalium ist es umgekehrt.
Was den Verlauf der Kurven betrifft, so gilt: Auf je höherem Niveau die Spontanaktivität zu Beginn der Versuche ist, desto steiler ist der Abfall im Bild beider Aktivitätskurven. In Anbetracht der beschränkten Energiereserven ist das durchaus verständlich.
Die Abweichung der Kaliumkurven von diesen Gesetzmäßigkeiten ist auffällig: Nach Dunkelreiz nimmt die Aktivität sehr stark zu, ohne Reiz ist sie sehr niedrig. Die Abklärung des Phänomens bedarf weiterer Untersuchungen. Vielleicht wird das Lichtrezeptorsystem durch niedrige Kaliumkonzentrationen beeinflußt, was sonst durch andere Wirkungen überlagert wird.

Aus Abb. 17a kann ist zu ersehen, daß die Spontanaktivität der Cercarien in 3.6 g/l $MgSO_4$ (entspricht der 8-fachen Konzentration von Magnesiumionen in Schneckenhämolymphe) und 0.65 g/l NaCl (entsprechender molarer Wert Na-Ionen) sich nur wenig unterscheiden. Im Vergleich zu Aqua dest. ist eine Steigerung der Aktivität nur zu Versuchsbeginn festzustellen (bis 14.30 Uhr, Abb. 16f). In einer Lösung jedoch, die 3.6 g/l $MgSO_4$ und 0.65 g/l NaCl enthält, ist die Spontanaktivität deutlich höher (Abb. 17a). Auffällig ist vor allem die dauerhafte Steigerung der Aktivität über die ganze Versuchsdauer. Das gleiche gilt auch für die Aktivität nach Dunkelreiz in der Mg/Na-Lösung (Abb. 18a, 19a).

Man könnte dies damit erklären, daß eine höhere osmotische Konzentration des umgebenden Mediums den Energieaufwand der Cercarien für osmoregulatorische Leistungen senkt und daß deshalb mehr Energiereserven für Schwimmbewegungen zur Verfügung stehen.

Becker (1971) machte Untersuchungen über die unterschiedliche Schwimmaktivität von Cercarien von S. mansoni in Aqua dest. und der von Chernin verwendeten balanced salt solution (BSS) und fand, daß die Larven in BSS deutlich länger aktiv bleiben als in Aqua dest.; er prüfte jedoch nur die Spontanaktivität.

Aus seinen Untersuchungen folgerte er, daß ein Ionenverlust in Aqua dest. zu dem Verlust an Schwimmaktivität führt. In einer kurzen Mitteilung berichtete er 1976 über gleichartige Versuche, in denen er in einer BSS alle Na-Ionen gegen Mg-Ionen ausgetauscht hatte. Die Schwimmaktivität blieb trotzdem verlängert.

Zur Klärung der Frage, was für die gesteigerte Aktivität verantwortlich ist - der osmotische Druck des Wassers allein oder auch die Art der vorhandenen Ionen - wurden die Aktivitätsversuche auch mit einer Lösung aus 3.6 g/l Magnesiumsulfat und 6.17 g/l Glucose

durchgeführt (entspricht demselben osmotischen Druck wie Mg + Na).
Aus Abb. 16a geht hervor, daß in einer Magnesiumsulfat/Glucose-Lösung die Aktvität nur kurzfristig, während 2 Stunden gesteigert ist im Vergleich mit Aqua dest.. Die Annahme, daß Cercarien doch zur Nahrungsaufnahme in der Lage seien, konnte somit nicht bestätigt werden. Abb. 18d zeigt dieselben Verhältnisse der Aktivität nach Dunkelreiz. Es folgt daraus, daß spezifisch die Kombination von Magnesium- und Natriumionen diese anregende Wirkung auf das Schwimmverhalten von Cercarien von Schistosoma mansoni hat.
In einer anderen Versuchsreihe wurde das Natrium durch Magnesium ersetzt (statt 3.6 g/l $MgSO_4$ + 0.65 g/l NaCl 7.2 g/l $MgSO_4$ - beide Lösungen hatten gleichen osmotischen Druck, Abb. 16c, 17b, 18c, 19c). Diese Beobachtung Beckers (1976) konnte nicht ganz bestätigt werden. Zwar war die Aktivität (spontan und nach Dunkelreiz) im Vergleich zu Aqua dest. erhöht, jedoch nur während der ersten zwei Stunden. Ab 14.30 Uhr sanken die Aktivitäten auf Werte unter dem Niveau von Aqua dest.. Becker (1976) stellte eine deutlich verlängerte Schwimmfähigkeit von Cercarien in BSS ("balanced salt solution", Zusammensetzung siehe S. 56) fest, in dem Natrium- gegen Magnesiumionen ausgetauscht waren. Jedoch zählte er nur einmal die schwimmenden und schwebenden Larven 5 Stunden nach Versuchsbeginn und seine Cercarien waren nicht durch Reize beansprucht. Nach 5 Stunden waren in Aqua dest. noch 18 %, in BSS 59 % und in BSS mit Magnesium- statt Natriumionen 58 % der Cercarien aktiv.
Es ist anzunehmen, daß die aktivitätssteigernde Wirkung von Magnesium- und Natriumionen darauf beruht, daß die Ionen an verschiedenen Stellen des selben Systems angreifen und sich dabei in ihrer Wirkung ergänzen;

denkbar wäre, daß durch das Natrium der Transport von Magnesium in die Zellen erleichtert wird. Das alles bedarf jedoch noch weiterer Klärung, insbesondere auch, inwieweit das Verhältnis Na/Mg eine Rolle spielt.

Niedrige Magnesiumkonzentrationen wirken im Vergleich zu Aqua dest. steigernd auf die Aktivität von Cercarien. (Abb. 16b, 18b) und zwar 1.8 g/l $MgSO_4$ mehr als 0.45 g/l $MgSO_4$, 3.60 g/l $MgSO_4$ jedoch geringer als 1.8 g/l $MgSO_4$. Die Aktivitätssteigerung ist vor allem in den ersten 2 Stunden ausgeprägt. Diese Wirkung tritt nur bei niedrigen Konzentrationen auf und ist nicht nur der Effekt des höheren osmotischen Druckes, da eine weitere Steigerung (7.2 g/l $MgSO_4$) nicht in der gleichen Weise wirkt (Abb. 16b,c, 18b,c, 20). Die maximale Wirksamkeit des Magnesiums scheint bei 1.8 g/l $MgSO_4$ erreicht zu sein, bei höheren Konzentrationen nimmt die Aktivität sogar wieder ab (Abb. 20).

Bei den Aktivitätsversuchen mit verschiedenen Kaliumkonzentrationen fiel auf, daß Konzentrationen von 0.1 g/l KCl und 0.2 g/l KCl wenig Steigerungen der spontanen Schwimmaktivität verursachten (Abb. 16d, e). Die Kombination von Magnesiumsulfat (0.45 g/l) und Kaliumchlorid (0.1 g/l) bewirkte eine deutliche Steigerung der Aktivität (spontan und nach Dunkelreiz) (Abb. 16e, 18f). Auf die Spontanaktivität wirkt eine Konzentration von 0.8 g/l KCl kurzzeitig ebenso steigernd, erreicht aber nicht den andauernden Effekt wie die K/Mg- Kombination (Abb. 16d). Auf die Aktivität nach Dunkelreiz hat die gleiche KCl-Konzentration (0.8 g/l) nicht diese stimulierende Wirkung (Abb. 18f). Der Unterschied in der Aktivität zwischen 0.2 g/l KCl und 0.1 g/l KCL + 0.45 g/l $MgSO_4$ läßt sich auch statistisch nachweisen ($\alpha = 0.01$) anhand des Vergleichs der Flächen unter den Kurven (Tab. 4a und Abb. 20).

In der Literatur finden sich auch einige Hinweise auf die engen Beziehungen zwischen Kalium- und Magnesiumionen. So stellte Halldal (1959) bei seinen Versuchen mit der Süßwasseralge Platymonas fest, daß für eine positive Phototaxis Kalium- und Magnesiumionen notwendig seien.
Whang und Welt (1963) haben gezeigt, daß eine Magnesiummangeldiät bei der Ratte zu einem intrazellulären Kaliumverlust, vor allem der Muskelzellen, führt, auch bei einem überreichen Kaliumangebot.
Aus dem Vergleich der erstellten Aktivitätskurven ergibt sich, daß 2 Stunden nach Versuchsbeginn (14.30 Uhr) eine Änderung des Kurvenverlaufs festzustellen ist. Es könnte sein, daß die Cercarien auch nach dem Schlüpfen noch eine Art Reifungsprozess durchmachen, der erst zu diesem Zeitpunkt abgeschlossen ist, so daß sich bestimmte Umweltbedingungen auf die "fertige" Cercarie anders auswirken als auf die "unfertige".
Die Schwimmaktivität von Cercarien kann durch die Kombination von Magnesium- und Natriumsalzen deutlich gesteigert werden kann, osmotische Bedingungen und einzelne Salze haben weniger Einfluß.

5. Zusammenfassung

Der Einfluß von Magnesium-, Kalium- und Natriumionen auf Schlüpfverhalten und Aktivität von Cercarien von Schistosoma mansoni wurde untersucht.
Bei den Schlüpfversuchen wurden 10 Schnecken 3 h in 50 ml der zu untersuchenden Ionenlösung gehalten, dann wurde die Cercarienzahl pro 10 ml ermittelt. Es wurden Ionenkonzentrationen verwendet, wie sie natürlicherweise in der Schneckenhämolymphe vorkommen und Vielfache davon. Vergleichswert war Aqua dest.
Die untersuchten Kaliumchloridlösungen (0.4 g/l KCl und 0.8 g/l KCl) erbrachten keine signifikante Veränderung der Cercarienzahl gegenüber Aqua dest.
Auch die Natriumchloridlösungen (0.65 g/l NaCl und 1.3 g/l NaCl) führten zu keiner signifikanten Veränderung der Cercarienzahl gegenüber Aqua dest.
In einer Lösung von 3.6 g/l $MgSO_4$ waren deutlich mehr geschlüpfte Cercarien als in Aqua dest. (α = 0.05).
In den Aktvitätstests wurden Cercarien in verschiedenen Lösungen ($MgSO_4$, NaCl, KCl, Glucose) gehalten und halbstündlich die Zahl der schwimmenden und schwebenden Cercarien festgehalten. Aus den gewonnenen Zahlen wurden Kurven erstellt, die die Aktivität der Larven für die Dauer des Versuches darstellten. Die deutlichste Aktivitätssteigerung bewirkte eine Lösung mit 3.6 g/l $MgSO_4$ + 0.65 g/l NaCl. Nach Ausübung eines kurzen Dunkelreizes steigerten die Larven ihre Aktivität. Dieser Effekt wurde ebenfalls in den verschiedenen Ionenlösungen untersucht, am deutlichsten war er in einer Lösung mit 0.2 g/l KCl ausgeprägt.

6. Summary

Experiments were made to test the effects of ions of magnesium, potassium and sodium on emergence and activity of cercariae of *Schistosoma mansoni*.
Ten snails were kept for three hours in 50 ml of a solution. Then the cercariae in a sample of 10 ml were counted. The concentrations used, were those in the hemolymph of snails and multiple values of them. Aqua dest. served as control.
In solutions containing 0.4 g/l KCl or 0.8 g/l KCl no significant change in the numbers of cercariae compared to Aqua dest. could be found.
Also in solutions containing 0.65 g/l NaCl or 1.30 g/l NaCl no significant change in the numbers of cercariae in comparison with Aqua dest. could be found.
In a solution containing 3.60 g/l $MgSO_4$ there were significant more cercariae than in Aqua dest. (α = 0.05).
The activity of cercariae was tested by keeping them in different solutions ($MgSO_4$, NaCl, KCl, Glucose) and counting the number of swimming and hanging larvae every thirty minutes. With these data diagrams were made to describe the activity. The most significant increase in activity was seen in a solution containing 3.6 g/l $MgSO_4$ + 0.65 g/l NaCl. A short stimulus of darkening the tube increased the activity of the cercariae. Various solutions were investigated for this effect. It was most distinct in a solution of 0.2 g/l KCl.

6. Literaturverzeichnis

Aikawa, J.:
Magnesium - it's Biological Significance
CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, (1981).

Anderson, R.M., Whitfield, P.J.:
Survival caracteristics of the freeliving cercarial population of the ectoparasitic digenean Transversotrema patialensis
Parasitology, 70, 295-310 (1975).

Anderson, R.M., Mercer, J.G., Wilson, R.A., Carter, N.P.:
Transmission of Schistosoma mansoni from man to snail: Experimental studies of miracidial survival and infectivity in relation to larval age, water temperature, host-size and host-age
Parasitology, 85, 339-360 (1982).

Asch, H., Drane, W.:
Schistosoma mansoni: Analysis of the kinetics of death of parasitic organisms by employing attrition of cercariae as a model
Exp. Parasitol., 31, 284-289 (1974).

Bauer, W.J.:
Untersuchungen zur Biologie der Zwischenwirtsfindung von Schistosoma mansoni
Diss. med., Techn. Univ. München, (1982).

Becker, W.:
Untersuchungen zur Osmo- und Ionenregulation bei Cercarien von Schistosoma mansoni
Z. Parasitenk., 35, 282-297 (1971).

Becker, W.:
Die Wirkung von Salzlösungen unterschiedlicher Ionenzusammensetzung auf die Schwimmaktivität der Cercarien von Schistosoma mansoni.
Z. Parasitenk., 50, 99-101 (1976).

Buddenbrook, W. von:
Vergleichende Physiologie, Band III,
Birkhäuser Verlag, Basel und Stuttgart, 425-617 (1956).

Chernin, E.:
Observations on hearts explanted from the snail Australorbis glabratus
Parasitology, 49, 353-364 (1963).

Cort, W.W.:
A study of the escape of cercariae from their snail hosts.
J. Parasitol. 8, 177-184 (1922).

Curtis, A.S.G.:
Cell adhesion
Sci. Prog. 54, 61 (1966).

Disko, R.:
Gesetzmäßigkeiten des Cercarienschwärmens von Schistosoma mansoni: Untersuchungen zu einem Basisvorgang der Bilharziose.
Habilitationschrift, Techn.Univ. München, (1974).

Disko, R.:
Schistosomiasis - Probleme und Erfolge
Fortschritte der Medizin, 100, 778-784 (1982).

Doenges J.:
Reizphysiologische Untersuchungen an der Cercarie von Posthodiplostomum cuticola (v. Nordmann, 1832) Dubois 1936, dem Erreger des Diplostomatiden-Melanoms der Fische.
Zool. Anz. Suppl., 27, 216-223 (1964).

Doenges, J.:
Parasitologie,
Thieme Verlag, Stuttgart, 136-207, (1980).

Donnelly, F.A., Appleton, C.C., Schutte, H.J.:
The influence of salinity on certain aspects of the biology of Bulinus africanus.
Int. J. Parasitol., 13, 539-545 (1983).

Ebrahimzadeh, A., Kraft, M.:
Ultrastrukturelle Untersuchungen zur Anatomie der Cercarien von Schistosoma mansoni.
II Das Exkretionssystem.
Z. Parasitenk. 36, 265-289 (1970).

Erasmus D.A.:
The biology of trematodes
Edward Arnold Publ., London (1972).

Fain, A.:
Contribution to the study of larvae forms of trematodes in the Belgian Congo, especially of the larvae of Schistosoma mansoni
Mem. Inst. Roy. Colon. Belg. Sect. Sci. Nat. Med., 22, 1-312 (1953).

Giovannola, A.:
Some observations on the emission of cercariae of Schistosoma mansoni from Australorbis glabratus
Proc. Helminth. Soc., 3, 60-61 (1936).

Graefe, G., Hohorst, W., Draeger H.:
Forked tail of the cercaria of Schistsoma mansoni - a rowing device
Nature (London), 215, 207-208 (1967).

Gumble A. et al.:
The effect of light, temperature and pH on the emergence of Schistosoma japonicum cercariae from Oncomelania nosophora.
Trans. Am. Micr. Soc., 76, 87-92 (1957).

Haas, W.:
Reizphysiologische Untersuchungen an Cercarien von Diplostomum spathaceum
Z. vergl. Physiologie, 64, 254-287 (1967).

Halldal, P.:
Factors affecting light response in phototactic algae
Physiol. Plant., 12, 742-752 (1959).

Herfs, A.:
Die pulsierende Vakuole der Protozoen, ein Schutzorgan gegen Aussüssung. Studien über Anpassung der Organismen an das Leben im Süßwasser.
Arch. Protistenk., 44, 227-260 (1922).

Ingalls, J.W.:
The control of schistosomiasis japonica. III. Study on the longevity of cercariae of Schistosoma japonicum in saline solutions.
J. Parasitol., 32, 521-524 (1946).

Kendall, S.B., McCullough, F.S.:
The emergence of the Cercariae of Fasciola hepatica from the snail Limnaea truncatula.
J. Helminthol., 25, 77-92 (1951).

Krakower, C.A.:
Some observations of the effects of physical and chemical agents on the cercariae of Schistosoma mansoni.
Puerto Rico J. Publ. Health Trop. Med., 16, 26-44 (1940).

Krogh, A.:
Osmotic regulation in aquatic animals
Dover Publications, Inc., New York (1965).

Lewert, R., Hopkins, D.R., Mandlowitz, S.:
The role of calcium and magnesium ions in invasiveness of Schistosoma mansoni cercariae
Am. J. Trop. Med. Hyg., 15, 314-323 (1966).

Mazia, D.,:
The particulate organization of the chromosome
Proc. Natl. Sci. Acad. U.S.A., 40, 521 (1954).

N.N.- WHO
Epidemiology and Control of Schistosomiasis
Techn. Rep. Series, 643, (1980)

Piekarski,G.,
Lehrbuch der Parasitologie
Springer-Verlag, Berlin (1954).

Pellegrino, J.; Valle, C.:
Infuencia do Geotropismo Negativo da Cercaria do Schistosoma mansoni Sobre a Infeccao do Camundongo Pela Canda
Revta. Inst. Med. Trop., 16, 179-181 (1974).

Podesta, R.B.:
Syncytial epithelia: Transport in the absence of paracellular pathways.
J. exp. Biol., 106, 195-204 (1983).

Ramm, B.; Hofmann, G.:
Biomathematik
Verlag Enke, Stuttgart (1982).

Rees, G.:
A study of the effect of light, temperature and salinity on the emergence of Cercariae Purpurea Lebour from Nucella Lapillus (L.).
Parasitology, 23, 228-242 (1948).

Richards, C.S.:
Emergence of cercariae of Schistosoma mansoni from Australorbis glabratus.
J. Parasitol., 47, 428 (1961).

Saladin, K.S.:
Behavioral manifestations of photosensitivity in cercariae of Schistosoma mansoni (Digenea, Schistosomatidae).
Ph. D. Dissertation, Florida State University (1979).

Schmidt-Nielsen, B.:
Comparative physiology of cellular ion and volume regulation.
J. Exp. Zool., 194, 207-220 (1975).

Short, R.B.; Gagne, H.T.:
Fine structure of a possible photoreceptor in cercariae of Schistosoma mansoni
J. Parasitol., 60, 69-74 (1975).

Smyth, J.D., Halton, D.W.:
Biology of the cercariae.
in: Smyth, J.D., ed.: The physiology of trematodes.
Cambridge University Press, 2nd ed., 154-176 (1983).

Technau, G.:
Bilharziose, ein lösbares Problem.
Naturwiss., 61, 111-116 (1974).

Whang, R., Welt, L.G.:
Observation in experimental magnesium depletion
J. Clin. Invest., 42, 305 (1963).

Whitfield, P.J., Anderson, R.M., Bundy, D.A.P.:
Experimental investigation on the behavior of the cercariae of an ectoparasitic digenean Transversotrema patialense: General activity patterns.
Parasitology, 75, 9-30 (1977).

Lebenslauf

Gertraud Johanna Seitz geb. Ferstl	geb. am 24. Juni 1958 in Parsberg/Oberpfalz
Eltern	Franz Ferstl, Landwirt Barbara Ferstl, geb. Ferstl
Schulbildung	1964 Eintritt in die Volksschule Willenhofen 1969 Übertritt in das Gymnasium Seligenthal in Landshut 1978 Abitur
Hochschule	1978 - 1983 Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München 11. November 1983 Tierärztliches Staatsexamen
Eheschließung	am 28.4.1984 mit Bernhard Seitz
Berufl. Tätigkeit	seit 1.2.86 tierärztliche Gemeinschaftspraxis mit Dr. Bernhard Seitz

Herrn Prof. Dr. R. Disko möchte ich für das Thema dieser Arbeit, für die vielen Anregungen und Denkanstöße zur Ausführung und seine stets freundliche Hilfe ganz herzlich danken.
Frau W. Winter hat durch ihre Hilfsbereitschaft und ihr Organisationstalent maßgeblich zu dieser Arbeit beigetragen.
Danken möchte ich auch Herrn Prof. Dr. R. Gothe für die freundliche Aufnahme und Vertretung dieser Arbeit an der Tierärztlichen Fakultät.
Den Mitarbeitern des Institutes für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene der Technischen Universität München und meinen Mitdoktoranden danke ich für das angenehme Arbeitsklima, die tatkräftige Unterstützung und die vielen fruchtbaren Diskussionen, die ein erfolgreiches Arbeiten erst ermöglichten.

Kopier Eck
Regensburg